

FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

Année 1913

THÈSE

N^o
154

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

PAR

PIERRE GASTINEL

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS ET DE L'HÔPITAL SAINT-LOUIS

Né à Remalard (Orne), le 4 Juillet 1884.

Travail du Service et du Laboratoire de l'Hôpital Claude Bernard
(Professeur Pierre TEISSIER)

Des

Réactions d'infection et d'immunité
dans la vaccine et la variole

(Etude clinique et expérimentale)

Président : M. LANDOUZY, Professeur.

PARIS

G. STEINHEIL, ÉDITEUR

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2,

1913

1831

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1913

THÈSE

134

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

PIERRE GASTINEL

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS ET DE L'HÔPITAL SAINT-LOUIS

Né à Remalard (Orne), le 4 Juillet 1884.

Travail du Service et du Laboratoire de l'Hôpital Claude Bernard
(Professeur Pierre TEISSIER)

Des

Réactions d'infection et d'immunité
dans la vaccine et la variole

(Etude clinique et expérimentale)



Président : M. LANDOUZY, Professeur.

PARIS

G. STEINHEIL, ÉDITEUR

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNÉ, 2,

1913

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen..... M. **LANDOUZY.**

Professeurs..... MM.

Anatomie.....	NICOLAS.
Physiologie.....	CH. RICHEL.
Physique médicale.....	WEISS.
Chimie organique et Chimie minérale.....	GAUTIER.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales.....	ACHARD.
Pathologie médicale.....	{ WIDAL.
Pathologie chirurgicale.....	{ TEISSIER.
Anatomie pathologique.....	N...
Histologie.....	MARIE (Pierre).
Opérations et appareils.....	PRENANT.
Pharmacologie et Matière médicale.....	HARTMANN.
Thérapeutique.....	POUCHET.
Hygiène.....	MARFAN.
Médecine légale.....	CHANTEMESSE
Histoire de la Médecine et de la Chirurgie.....	THOINOT.
Pathologie comparée et expérimentale.....	LETULLE.
	ROGER.
	{ CHAUFFARD.
	{ GILBERT
	{ DEBOVE.
	{ LANDOUZY.
Clinique des maladies des enfants.....	HUTINEL.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	GAUCHER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale..	BALLET (Gilbert).
Clinique des maladies nerveuses.....	DEJERINE.
	{ DELBET (Pierre).
	{ QUENU.
Clinique chirurgicale.....	{ RECLUS.
	{ SEGOND.
Clinique ophtalmologique.....	DE LAPPERSONNE.
Clinique des voies urinaires.....	N...
	{ BAR.
Clinique d'accouchements.....	{ PINARD.
	{ RIBEMONT-DESSAIGNES.
Clinique gynécologique.....	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile.....	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique.....	ROBIN.

Agrégés en exercice

MM.	MM.	MM.	MM.
BALTHAZARD	DESGREZ.	LENORMANT.	PROUST.
BERNARD (Léon).	DUVAL (Pierre).	LEQUEUX.	RATHERY.
BRANCA.	GOUGEROT.	LERI.	REITTERER.
BRINDEAU.	GREGOIRE.	LOEPER.	RICHAUD.
BROCA (André).	GUENIOT.	MACAIGNE.	ROUSSY.
BRUMPT.	GUILLAIN.	MAILLARD.	ROUVIERE.
CAMUS.	JEANNIN.	MORESTIN.	SCHWARTZ.
CARNOT.	JOUSSET.	MULON.	SICARD.
CASTAIGNE.	LABBE (Marcel).	NICLOUX.	TERRIEN (F.).
CHEVASSU.	LAIGNEL-LAVASTINE.	NOBECOURT	TIFFENEAU.
CLAUDE.	LANGLOIS.	OKINCZYC.	ZIMMERN.
COUVELAIRE.	LECENE.	OMBREDANNE.	

Le Secrétaire de la Faculté : DESTOUCHES.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ou improbation.

A MON PÈRE

LE DOCTEUR A. GASTINEL

MÉDECIN DU MINISTÈRE DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE ET DES BEAUX-ARTS

A MA MÈRE

A TOUS LES MIENS

A LA MÉMOIRE DES DOCTEURS

L. AUDOUY

H. ISAAC

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Le Professeur L. LANDOUZY

Doyen de la Faculté de Médecine de Paris

Médecin de l'hôpital Laënnec

Membre de l'Académie de Médecine

Commandeur de la Légion d'honneur.

*Hommage de profond respect et de
reconnaissance.*

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR PIERRE TEISSIER

Professeur à la Faculté de médecine de Paris

Médecin de l'hôpital Claude Bernard

Chevalier de la Légion d'honneur.

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ F. BEZANÇON

Médecin de la Charité

Chevalier de la Légion d'honneur.

A TOUS MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Au Docteur P. MERKLEN (*in memoriam*).

Externat :

Professeur TERRIER (<i>in memoriam</i>).	}	1903-1906
Professeur agrégé Gosset.		
Docteur THIBIERGE (Broca).		
Professeur agrégé THIROLOIX (Pitié)		1906-1907.
Professeur F. WIDAL (Cochin)		1907-1908.

Internat :

Docteur THIBIERGE (Saint-Louis),	1908-1909.	
Docteur CLAISSE (Pitié),	1909-1910.	
Professeur TEISSIER (Claude-Bernard)	}	1910-1911.
Professeur LANDOUZY (Laënnec)		
Professeur agrégé F. BEZANÇON (Charité),		1911-1912.

Au Docteur P. RAVAUT, médecin des Hôpitaux.

AUX Docteurs LÉON BERNARD, GRÉGOIRE, GARNIER, LAUBRY, LESNÉ,
PAGNIEZ.

A MES MAITRES DANS LES LABORATOIRES

MM. ROUX, BORREL JOLLY, RUBENS-DUVAL, PAUTRIER.

AUX Docteurs A. BAUDOUIN, CAPETTE et HALBRON.

A M. le Docteur FASQUELLE.

INTRODUCTION

La vaccine et la variole ont été depuis de si longues années et à tant de points de vue l'objet de nombreuses études, qu'il paraît difficile d'y trouver matière à nouveauté.

Cependant, entre toutes ces études effectuées à leur sujet, deux séries de travaux ont surtout fixé notre attention ; en effet, une voie nouvelle d'investigation a été largement ouverte par les très belles et fécondes recherches de Bédère, Chambon et Ménard, et par les patientes constatations cliniques de Von Pirquet ; ces auteurs français, en découvrant l'action neutralisante du sérum, ont inauguré le chapitre des réactions humorales des sujets vaccinés et varioleux. Le médecin Viennois, par la description des phénomènes de revaccinations, créait l'histoire de l'allergie, histoire toute pleine de portées générales et riche en déductions.

Ces travaux indiquaient une voie, nous nous y sommes engagés.

Les réactions humorales du vacciné et du varioleux posent toute une série de questions qui valent d'être envisagées tant au point de vue théorique que clinique et pratique. C'est à ces questions que cette thèse est consacrée.

Dans une première partie, nous ferons la discussion et l'exposé critique des recherches connexes et antérieures utiles à connaître pour la compréhension de nos faits.

Dans une deuxième partie, toute personnelle, nous envisagerons les réactions humores dans la vaccine humaine et expérimentale, et les réactions également offertes par le sujet atteint de variole.

Pour faire cette étude, nous avons d'abord cherché à préciser la technique, surtout pour adapter à notre sujet la méthode de la réaction de fixation ; nous en avons discuté et montré la valeur.

Inoculant des animaux par diverses voies et différents procédés, nous avons dans chaque cas étudié leur type de réactions humores : réaction de fixation, pouvoir virulicide du sérum, formule sanguine.

Les renseignements comparativement fournis par ces recherches parallèlement faites, nous ont permis d'aborder les principales questions suivantes :

1° La vaccination, quel que soit son mode, détermine-t-elle toujours dans le sérum du sujet l'apparition de propriétés acquises, c'est-à-dire d'anticorps circulants, et peut-on aussi les trouver dans les organes ?

2° Quel rapport y a-t-il lieu d'établir entre ces propriétés et le phénomène allergique de la réaction précoce décrit par Von Pirquet ?

3° Les mêmes propriétés peuvent-elles être décelées dans le sérum des varioleux ?

4° Le vacciné et le varioleux offrent-ils des réactions communes, et leurs anticorps présentent-ils une égale affinité pour l'antigène de l'une et l'autre nature ?

5° Existe-t-il chez l'homme ou chez l'animal en expérience, des réactions traduisant *in vitro* un état d'infection et secondairement un état d'immunité ?

Semblable dissociation est importante s'il est possible d'attribuer une signification clinique à tel type de réactions humérales observées. Aussi nous a-t-il paru intéressant de préciser le caractère de ces réactions dans le cas schématique de la variole et surtout de la vaccine. Ici, en effet, l'infection a un cycle évolutif limité, et elle détermine un état de protection facile à juger. Il convient donc de placer l'étude des propriétés acquises par la vaccination jennérienne à l'origine des recherches sérologiques concernant l'immunité : si la vaccine est le prototype des infections « vaccinales », elle doit logiquement servir de base à l'étude des réactions humérales des sujets « vaccinés ».

Notre Maître, le professeur Pierre Teissier, a été l'inspirateur et le guide de ce travail. Qu'il veuille bien agréer l'expression de notre vive gratitude et de notre respectueux attachement.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LA NOTION DES ANTICORPS DANS LA VACCINE ET LA VARIOLE

SOMMAIRE

- I. — La vaccination cutanée et non tégumentaire. — L'immunité passive et la notion des anticorps vaccinaux. — Discussion sur la généralisation du virus, après insertion locale ou inoculation endoveineuse. — La vaccine généralisée.
- II. — Les anticorps varioliques. — La généralisation du virus. — Le pouvoir immunisant du sérum.

Si les anticorps dans la vaccine et la variole n'ont jamais fait l'objet d'une étude spéciale, il existe une série de travaux prouvant nettement qu'à la suite de l'infection vaccinale ou variolique, des propriétés nouvelles et immunisantes apparaissent dans le sérum.

Nous voudrions donc rappeler brièvement ici, comment se présente le problème de ces anticorps et, par suite de quelles considérations on est admis, non seulement à en affirmer l'existence, mais encore à en faire l'étude dans les différents types de vaccination. Sans doute, et *a priori*, leur existence semble indéniable, un état qui confère l'immunité ne peut aboutir à ce résultat que par une profonde atteinte de « l'humorisme » de l'individu. Mais dans la vaccine la question est complexe ; l'immu-

nité est-elle obtenue par les différentes voies d'inoculation ? Est-elle produite par une dissémination du virus, ou par une rapide éclosion d'anticorps ?

Nous aurons l'occasion de revenir plus loin sur les recherches qui tendent bien à prouver la réalité de la vaccination non légumentaire.

De nombreux auteurs ont, à maintes reprises, tenté d'immuniser, soit expérimentalement, soit même dans la pratique de la vaccine humaine, sans produire la lésion vaccinale intra-épidermique.

Nous rappelons seulement ici que, dès 1866, le professeur Chauveau (1) démontra dans une série de travaux mémorables, la possibilité des vaccinations non légumentaires.

Il prouva que, si le virus vaccinal est injecté dans le tissu cellulaire sous-cutané de l'homme, du bœuf ou du cheval, il se produit une tuméfaction locale, et les sujets acquièrent l'immunité vaccinale. Mais chez les jeunes sujets de l'espèce chevaline, il survient quelquefois des exanthèmes pustuleux plus ou moins généralisés. Le professeur Chauveau n'observa jamais ces exanthèmes chez l'homme et le bovin.

De même, cet auteur nota qu'à la suite d'injection vaccinale dans les lymphatiques ou dans les veines, le cheval acquiert l'immunité, et que souvent même il offre

(1) CHAUXEAU. Production expérimentale de la vaccine naturelle improprement appelée vaccine spontanée. *Bulletin Académie de médecine*, 1865-1866, p. 558-568.

Des conditions qui président au développement de la vaccine dite primitive. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1865-1866, p. 1111-1139.

Vaccine originelle. *Revue mensuelle de médecine et de chirurgie*, 1877, t. I, p. 241-279.

une éruption d'exanthèmes vaccinaux. Semblables injections ne paraissent pas, à M. Chauveau, exercer dans l'espèce bovine la moindre influence générale.

Strauss, Chambon et Ménard (1) ont vu qu'en injectant à dose très faible du vaccin par voie endo-veineuse chez le veau, on produisait constamment l'immunité, sans aucune manifestation locale.

Pendant cette notion de la vaccination non tégumentaire, n'a pas été et n'est pas encore admise sans conteste. Certains auteurs prétendent que seule la lésion de la peau est capable de conférer l'immunité, et que dans tous les cas où cette immunité est acquise, c'est que la lésion du tégument existe, ne serait-ce que microscopique. Sans vouloir entrer ici dans une discussion au sujet de l'immunité uniquement histogène, cytologique comme le soutient Borrel, il semble bien, en s'appuyant sur les observations de beaucoup d'auteurs, et les très récentes expériences de Kelsch, Camus et Tanon (2), que l'immunité vaccinale peut être conférée en dehors de l'acte épidermique.

D'ailleurs, que ce dernier existe ou que l'état réfractaire soit acquis sans lésion du tégument, il est à se demander si le virus vaccinal inoculé est en circulation dans le sang, et si sa généralisation est la cause de l'immunité, ou si l'insertion vaccinale suffit à déterminer localement l'apparition de corps réactionnels, c'est-à-dire d'anticorps.

(1) STRAUSS, CHAMBON, MÉNARD. *Compte-rendu de la Société de Biologie*, 20 décembre 1890, p. 721-727.

(2) KELSCH, CAMUS et TANON. De l'immunité dans ses rapports avec la voie de pénétration du vaccin dans l'organisme. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1908, LX, p. 128-163.

Maurice Raynaud (1), saignant en pleine éruption vaccinale une génisse vaccinée depuis 6 jours, transfusa 250 gr. de sang à une génisse neuve et, 14 jours après, cette dernière possédait l'immunité ainsi qu'en témoignait la stérilité de 60 inoculations d'épreuve. Mais, quelques temps après la communication de ses premières recherches, l'auteur publia un travail (2) dans lequel il considère comme exceptionnel les cas où la transfusion du sang produit chez l'animal l'immunité vaccinale. Reprenant ces expériences, Strauss, Chambon et Ménard montrèrent qu'il est possible de conférer l'immunité aux veaux par la transfusion de sang provenant d'un animal en pleine éruption vaccinale au septième jour, mais il faut transfuser des quantités considérables de sang, 4, 5 et 6 kilos.

D'après ces auteurs, ces expériences prouvaient « que le microbe de la vaccine existe dans le sang pendant la période d'éruption, mais en petite quantité ». Il semblerait donc que vers le sixième ou le septième jour le sang se « comporterait comme un virus d'extrême dilution ».

Dans leur premier mémoire, Béclère, Chambon et Ménard (3) montrèrent que l'injection du sérum d'une génisse immunisée à une génisse neuve, détermine une

(1) MAURICE RAYNAUD. Etude expérimentale sur le rôle du sang dans la transmission de l'immunité vaccinale. *Compte-rendu de l'Académie des Sciences*, 1877, t. LXXXIV, p. 453 et 517.

(2) MAURICE RAYNAUD. De l'infection et de l'immunité vaccinales. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1878, p. 878.

(3) BÉCLÈRE, CHAMBON, MÉNARD. Etude sur l'immunité vaccinale et le pouvoir immunisant du sérum d'une génisse vaccinée. *Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1896, p. 1-46.

immunité plus ou moins parfaite suivant la quantité de sérum injectée, mais se manifestant toujours très rapidement. L'immunité ainsi obtenue pouvait être due à l'inoculation de l'agent vaccinal en circulation dans le sang. Pour prouver qu'il n'en était point ainsi, Béchère, Chambon et Ménard étudièrent l'immunité conférée par les injections sous-cutanées de vaccin. Ils virent que ce n'était que huit ou dix jours après cette inoculation sous-cutanée que l'insertion d'épreuve était modifiée, avortée ou nulle. Or, l'inoculation d'épreuve étant pratiquée trois jours après l'injection intraveineuse de sérum de génisse vaccinée à une génisse neuve, ils observèrent l'immunité de cette dernière. D'autre part, l'injection de sérum précédant l'inoculation épidermique, modifie les caractères de l'éruption vaccinale et altère la virulence du contenu des pustules.

De ces expériences il était logique de déduire que l'immunité conférée par le sérum de génisse vaccinée s'établissait rapidement, qu'elle différait donc essentiellement de l'immunité si lente qui suit l'inoculation vaccinale. Béchère et ses collaborateurs prouvaient ainsi nettement l'existence, dans le sérum de l'animal vacciné, de substances immunisantes, d'anticorps vaccinaux.

Mais ces anticorps apparaissent-ils consécutivement à une généralisation du virus vaccinal, ou ne sont-ils dus qu'à l'insertion locale du vaccin, demeurant et évoluant au point de l'inoculation.

De nombreux travaux ont été faits à ce point de vue, principalement en Allemagne. Beaucoup d'auteurs, en effet, ont cherché à établir s'il était possible de retrouver l'agent de la vaccine dans la circulation ou dans les organes.

Reiter (1) produisait une lésion vaccinale en appliquant sur une scarification de la charpie imbibée de sang d'un sujet vacciné depuis 12 jours. Pfeiffer (2) put de même vacciner avec le sang d'enfant ou de veau. Frosch (3) pense que les germes vaccinaux sont en circulation dans le sang, car il a pu produire des pustules vaccinales avec les différents organes d'un animal vacciné depuis quelque temps, en particulier avec la rate, le foie et les extraits de glandes et de moelle osseuse. Vanselow et Frayer (4) obtinrent un résultat également positif en vaccinant avec des organes comme Frosch, Neisser (5) constate qu'il est possible de vacciner avec la moelle osseuse d'un singe vacciné depuis 15 jours.

Siegel (6) peut obtenir une fois sur trois des corpuscules de Guarneri sur la cornée en utilisant le filtrat d'organe et le sang. Wasielewski (7), obtient les mêmes résultats. Kraus et Volk (8) faisant l'excision d'une lésion vaccinale au troisième jour, c'est-à-dire avant l'apparition de la pustule, constatent néanmoins que le sujet est

(1) REITER. Studien über Austeckungsfähigkeit des Kühpochenstoffes. *Aertztliches Intelligenzblatt*, IV, 1872.

(2) PFEIFFER. *Die Protozoen als Krankheitserreger*. Iéna, 1895.

(3 et 4) *Bericht der Kommission zur Prüfung der Impfstofffrage*. Berlin, J. Springer, 1896.

(5) NEISSER. Versuche zur Übertragung der Syphilis auf Affen, *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 1906, n° 1, S. 1 à 5; n° 2, 49-53; n° 3, S. 97-102.

(6) SIEGEL. Untersuchungen über die Ätiologie der Poeken und der Maul- und Kläuenseuche. Aus dem Anhang zu den *Abhandlungen der Königl. Preuss. Akademie der Wissenschaften*. Berlin, 1905.

(7) WASIELEWSKI. Über die Technik der Guarnerischen Impffexperimentes und seine Verwendung zum Nachweis von Vaccineerregern in den innern Organen von Impftieren. *Münchener medizinische Wochenschrift*, 1905, LII, n° 28, S. 1189-1192.

(8) KRAUS et VOLK. Weitere Studien über Immunität bei Syphilis und bei Vakzination gegen Variola. *Wiener klinische Wochenschrift*, 1906, n° 22. p. 620-622.

réfractaire à une inoculation d'épreuve pratiquée dix jours après. Aldershoff (1) peut vacciner avec l'extrait de rein d'un sujet immun.

A l'encontre de ces faits, de très nombreux expérimentateurs ont soutenu que l'immunité vaccinale n'était point secondaire à une circulation de l'agent virulent, et à sa généralisation dans l'organisme.

Paschen (2) échoue dans tous ses essais de vaccination avec des extraits de rate et de ganglions bronchiques ou médiastinaux. La vaccination de la cornée était même négative.

Les mêmes expériences négatives sont faites par Prowazek (3), Haaland (4), Hauser (5), Jurgens (6), Ohly (7) ne parviennent pas à produire de lésions vaccinales en utilisant soit des extraits d'organes, soit du sang d'un animal vacciné (lapin).

Nobl (8) refaisant des expériences analogues, nie le passage du virus dans la circulation générale, à la

(1) ALDERSHOFF. Dissertation. Utrecht, 1906. Ref. in *Hygienische Rundschau*, 1907, S. 1358.

(2) PASCHEN. Was wissen wir über den Vakzinerreger? *Münchener medizinische Wochenschrift*, 1906, S. 2391-2393.

(3) PROWAZEK. Untersuchungen über die Vaccine *Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt*. Bd. XXII, 1905, p. 534. Bd. XXIII, 1906, p. 525. Bd. XXVI, 1907, p. 54.

(4) HAALAND. Über Lungenveränderungen nach intrapulmonaler Injektion von Vaccinelymphe nebst Bemerkungen über den behaupteten Nachweis der Vaccinevirus in den inneren Organen. S. A. aus *Medizinische Klinik*. Berlin, 1905, n° 42.

(5) HAUSER. *Untersuchungen über den Vaccinerreger*. Diss. Freiburg, 1905.

(6) JÜRGENS. Die diagnostische Bedeutung der Variolakörperchen. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1905, S. 308.

(7) OHLY. *Über die Lebensfähigkeit des Vaccine-Virus im Kaninchen-körper*. Diss. Marburg, 1906.

(8) NOBL. Beiträge zur Vaccineimmunität. *Wiener klinische Wochenschrift*, 1906, S. 658-660.

suite de l'inoculation vaccinale sous-cutanée. Il n'observe en effet, jamais de pustules en scarifiant le tégument sur plusieurs points, après cette inoculation. Tuant un lapin cinq jours après une vaccination cutanée, il prélève du sang et fait des extraits d'organes ; il essaie avec ce matériel la vaccination d'autres animaux, et sur 14 tentatives, il a 14 résultats négatifs.

Süpfle (1) étudie à nouveau la question d'une généralisation possible du virus vaccinal. Si l'inoculation est faite par voie sous-cutanée, il ne peut jamais obtenir d'éruption pustuleuse sur la peau rasée, de même irritant plusieurs zones cutanées et en vaccinant une d'elles, il n'observe jamais de généralisation. L'auteur en conclut qu'au moins, chez le lapin, le virus de la vaccine ne gagne jamais la circulation générale après une insertion locale.

MM. Teissier et Duvoir ont également échoué en scarifiant le dos du lapin, inoculé auparavant, par voie digestive ou péritonéale.

Si la généralisation du vaccin, après insertion intra-épidermique, est contredite, il est à se demander ce que devient ce vaccin, lorsqu'il est introduit par voie endoveineuse. Chauveau, en 1866, avait montré que l'inoculation directe de vaccin dans les veines, immunise le cheval, mais que ce dernier peut présenter sur les muqueuses une éruption spontanée, témoin de la généralisation du vaccin. Étudiant la vaccine intraveineuse du lapin, Calmette et Guérin (2) observent que si

(1) SÜPFLE. Die Vaccineimmunität. *Archiv für Hygiene*, t. 68, 1908, S. 237-302.

(2) CALMETTE et GUÉRIN. Recherches sur la vaccine expérimentale. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 mars 1901, p. 161.

« dans les premières 24 heures qui suivent l'introduc-
« tion du vaccin dans les veines, on rase l'animal sur le
« dos, on voit apparaître, le troisième jour sur la région
« rasée, une quantité de pustules parfaitement caracté-
« ristiques. »

Mais à l'encontre de ce que Chauveau voyait sur le cheval, ces auteurs n'observèrent jamais d'éruption spontanée, les éléments vaccinaux demeurant localisés à la région rasée. Le phénomène décrit par Calmette et Guérin ne peut être reproduit après 24 heures, et il faut admettre que le virus reste seulement en circulation pendant les 24 premières heures qui suivent l'inoculation, « conservant une tendance marquée à se localiser dans
« le derme, au niveau des légères érosions produites par
« le rasoir. »

Si l'on cherche, après inoculation, dans les veines la présence d'agent virulent dans quelque organe, on ne le retrouve ni dans le sang, le foie, le rein, la rate, le poumon, la moelle osseuse. Il y a donc une destruction du virus, sa mise en évidence dans la circulation générale n'étant que temporaire.

Süpfle (1) recherche également s'il était possible d'obtenir une éruption cutanée secondairement à l'inoculation de vaccin dans les veines. Il confirma les expériences de Calmette et Guérin, observant, comme eux, l'apparition d'éléments vaccinaux sur une région du tégument préalablement irrité et seulement dans les 24 premières heures après l'inoculation intraveineuse.

Jules Rehns (2) ne peut même mettre en évidence le

(1) *Loco citato.*

(2) Jules REHNS. Quelques expériences sur la vaccine. *Société de Biologie*, 1903, p. 362.

virus dans le sang après inoculation endo-veineuse. Abouchant la carotide du lapin vaccinifère à la jugulaire d'un lapin normal, à aucun moment le sang de l'animal vacciné ne doit contenir le virus, puisque l'animal qui reçoit le sang n'apparaît pas réfractaire à une vaccination ultérieure. De même les différents organes pulpés ne peuvent immuniser des lapins neufs.

Ainsi donc, si la généralisation du virus vaccinal dans l'organisme a été admise par quelques auteurs, elle est très catégoriquement niée par beaucoup. Il est bien difficile que cette question soit tranchée d'une façon absolue ; il faudrait faire une critique sévère des procédés et des techniques, en tenant compte, surtout, des contaminations involontaires dont on connaît l'importance, quand on opère dans des centres vaccinogènes (Teissier et Kelsch).

Ce ne serait d'ailleurs pas l'existence du virus vaccinal dans un organe, prouvée par quelques expériences isolées qui infirmerait le fait essentiel de la non généralisation du virus, au moins dans les cas habituels de la vaccination humaine et expérimentale. Néanmoins, et à titre exceptionnel, il peut exister des cas de généralisation vaccinale ; ces cas peuvent ressortir au domaine de l'expérimentation ; ils pourraient, peut-être aussi, s'observer en clinique. On a rapporté des faits où, à la suite d'une inoculation vaccinale, une éruption généralisée est survenue, avec des troubles généraux plus ou moins accentués. Cette éruption peut simuler dans ses caractères morphologiques la varioloïde, au point que cliniquement il est difficile de l'en différencier. Ces vaccines généralisées sont d'ailleurs assez rares, et les

observations rapportées par Richard, en 1809, Etienne et Cizalas sont bien peu convaincantes.

Dernièrement, E. Hill et G. A. P. Ross (1) rapportent des faits curieux d'épidémie vaccinale survenue au Natal ; dans 20 % des cas, ils observèrent une éruption généralisée de vaccine du quatorzième au vingt-huitième jour. Ils remarquèrent de plus, que ces épidémies vaccinales semblaient être influencées par la température ; 363 cas, en effet, furent observés dans les districts à basse température, et 63 seulement, dans les régions à haute température.

Il est très difficile ici, encore, d'interpréter exactement les faits dits de vaccine généralisée ; beaucoup d'auteurs même prétendent qu'il ne s'agit que d'une fausse généralisation due au transport des germes, soit par le grattage, soit par l'intermédiaire d'insectes se faisant les véhicules du virus.

Que ressort-il de tout ceci ? Il faut admettre que l'agent de la vaccine inoculée intra-épidermique évolue localement, et qu'introduit par la voie endo-veineuse, il se produit une destruction rapide du virus dans l'organisme, puisque d'après Calmette et Guérin, on ne peut retrouver que pendant 24 heures ce virus chez le lapin.

Il y a donc lieu d'admettre l'existence dans le sérum des vaccinés, de substances immunisantes apparaissant après l'inoculation vaccinale, selon ses différents modes, assurant l'état réfractaire au sujet et pouvant passivement conférer l'immunité dans certaines conditions expé-

(1) Epidémie de vaccine généralisée. *Journal of Hygien*, t. X, n° 2, 1910, p. 127.

riméntales, telles que les ont réalisées Bécélère, Chambon et Ménard.

L'immunité vaccinale implique donc toujours la formation d'anticorps et c'est peut-être même leur notion qui doit être invoquée pour expliquer l'absence de généralisation du vaccin inséré localement ; c'est par eux encore qu'il faut interpréter le curieux phénomène de la réaction précoce que nous aurons à étudier au chapitre suivant.

Si maintenant nous envisageons la variole, nous sommes obligés d'admettre chez les varioleux l'existence de substances immunisantes, d'anticorps qui assurent leur état réfractaire vis-à-vis d'une récédive et vis-à-vis d'une vaccination ultérieure ; mais ici les anticorps varioliques apparaissent-ils encore comme secondaires à une généralisation du virus ?

Roger et Weil inoculèrent du sang variolique à des singes macaques ; ils présentèrent sans troubles généraux, de petites pustules se recouvrant d'une croûte et se desséchant sans se remplir de pus. La réceptivité ultérieure à la vaccine était très diminuée, complètement nulle même chez les singes inoculés avec du sang de variole hémorragique. Chez le lapin, l'inoculation sous-cutanée de sang de varioleux peut provoquer une éruption papuleuse comparable à celle que l'on observe dans la variole des nouveau-nés.

Dans ces cas, il y a également une mononucléose sanguine et une réaction de la moelle osseuse identique aux réactions observées au cours de la variole humaine. Pour ces auteurs, le sang des animaux inoculés de

variole n'est pas toujours fertile et pour eux, le parasite ne s'y trouve que pendant un temps assez court ; mais le sang de varioleux peut encore, injecté sous la peau, conférer l'immunité si la dose est suffisante.

Süpfle (1), admet la généralisation du virus de la variole par la circulation ; il partirait d'une proto-pustule qui jouerait ainsi le rôle de pustule-mère. Ce virus aurait tendance à se multiplier très vite, si bien que les corps immunisants n'auraient pas le temps de se former pour empêcher la généralisation et la dissémination pustuleuse.

Von Pirquet admet également la généralisation du virus et sa multiplication rapide. Prowaseck et de Beaurepaire in Aragao (2) affirment encore que le virus de la variole circule dans le sang et qu'il est déposé dans les cellules pour y déterminer l'évolution de la lésion cutanée. Inoculant un lapin, avec du sang de variole hémorragique, ils ont pu déterminer au sixième jour une réaction de la cornée avec corpuscules de Guarnéri dans les coupes. Dans d'autres cas, l'inoculation pratiquée avec du sang, des extraits de rein, de rate, de foie de varioleux, sur la cornée ou la peau d'un lapin, ne détermine aucune lésion apparente, mais l'animal est immunisé, ce dont on juge par le résultat négatif d'une vaccination ultérieure.

De tous ces faits, il semble possible de déduire que la variole est conditionnée dans son évolution par une circulation tout au moins transitoire de son virus, et que,

(1) *Loc. cit.*

(2) Untersuchungen über die Variola. *Münchener medizinische Wochenschrift*, n° 44. 3 nov. 1908, S. 2265-2266.

d'autre part, le sérum du varioleux contient des substances immunisantes, c'est-à-dire des anticorps assurant son état réfractaire, et capables de conférer l'immunité passive à l'animal inoculé.

Mais à la question des anticorps dans la variole s'adjoint comme corollaire celle du rapport qui peut exister entre les anticorps varioliques et vaccinaux.

C'est là une question d'un puissant intérêt, puisque le débat est encore ouvert sur le problème de l'identité, de la dualité ou de la transformation de la variole et de la vaccine. Peut-on, dans l'étude des réactions humorales du sujet vacciné ou du varioleux, trouver quelques notions servant de preuve ou d'infirmité à l'identité de ces deux infections ?

L'exposé des faits qui précèdent implique donc dans la variole comme dans la vaccine, l'existence d'anticorps spécifiques, et c'est leur mode de recherche que nous allons maintenant envisager.

CHAPITRE II

ETUDE THÉORIQUE ET CRITIQUE DES ANTICORPS DANS LA VACCINE ET LA VARIOLE. — LEUR MODE DE RECHERCHE

SOMMAIRE

- I. — Notions générales. — Conception de M. Nicolle. Phénomènes de coagulation, phénomènes lytiques. — Coexistence de l'immunité et de la sensibilité. — L'allergie vaccinale. Théorie de Wolff-Eisner et de Pirquet.
- II. — Mode d'étude de l'immunité vaccinale. — Les précipitines. — Pouvoir antivirulent. Son étude d'après les auteurs. — Son rôle dans l'immunité. — La méthode des déviations complémentaires. — Recherches allemandes et italiennes, critiques des travaux.

L'étude des anticorps dans la vaccine et la variole se présente dans des conditions particulièrement difficiles, étant donné que l'on ne connaît pas l'agent pathogène de ces deux affections.

Les procédés appliqués à leur étude n'offrent donc pas la rigueur scientifique comparable à celle qui appartient aux expériences faites quand l'agent spécifique est isolé. Nous aurons d'ailleurs à montrer toutes les réserves qu'il convient de faire dans une étude de ce genre.

Mais pour expliquer l'idée directrice de ces recherches, il nous faut très brièvement rappeler quelques notions générales.

On sait qu'après introduction d'antigène (c'est-à-dire

de toute substance susceptible d'entrer en conflit avec l'organisme), il existe dans le sérum du sujet inoculé des propriétés nouvelles spécifiques, qu'il est possible de mettre en évidence *in vitro* par leur action sur des antigènes correspondants.

Ces propriétés nouvelles n'existent pas dans le sérum des sujets neufs. On donne le nom d'anticorps aux substances qui déterminent ces propriétés nouvelles des sérums.

De nombreuses théories ont été proposées pour interpréter le mode d'action des anticorps. Parmi toutes ces théories, celle soutenue par M. Nicolle est particulièrement séduisante. D'après cet auteur, toute leur action peut se ramener à des phénomènes de coagulation ou de décoagulation des antigènes.

L'organisme animal répondrait donc à ces derniers par le moyen de deux anticorps différents : les coagulines et les lysines.

Ils sont formés parallèlement, bien que leur quantité respective demeure variable. « C'est cette abondance variable dans le temps et dans le lieu que traduisent objectivement les phénomènes classiques de l'immunité et de l'hypersensibilité ». L'immunité ressortirait à la production prépondérante des coagulines, et l'hypersensibilité ressortirait au contraire à la production dominante des lysines.

Ces proportions respectives des deux anticorps peuvent être réglées expérimentalement. On sait que cette réglementation dépend essentiellement :

- 1° De la nature même de l'antigène ;
- 2° Du mode d'introduction de ce dernier (la voie

péritonéale favorisant les productions coagulantes, les injections endoveineuses et sous-cutanées, favorisant la production des lysines);

3° De la nature du terrain récepteur, c'est-à-dire des conditions dans lesquelles se trouve le sujet qui peut, de par son âge, ou son hérédité, présenter des substances (anticorps, ou antigènes) préexistant dans son sérum.

Donc, suivant les circonstances, l'inoculation de l'antigène au sujet peut engendrer, soit l'hypersensibilité, soit la succession, soit la coexistence de ces deux états. Le plus souvent on retrouve associées dans le sérum des animaux infectés des coagulines et des lysines.

Il est à se demander maintenant si dans la vaccine et la variole, les faits sont réductibles à la simplicité de cette conception.

Après une première vaccination mettant l'individu en état de protection, il est cependant possible de déterminer chez lui des réactions vaccinales secondaires prenant des caractères cliniques particuliers et semblant par la précocité de leur apparition répondre à une véritable sensibilité de l'individu immun.

Ces réactions de revaccination ont été minutieusement étudiées par Von Pirquet (1), dans un ouvrage spécialement consacré à leur description et à leur interprétation.

Plusieurs faits doivent être distingués ; quand on pratique des vaccinations en série se succédant quotidiennement à la suite d'une primo-vaccination, on

(1) V. PIRQUET. *Klinische Studien über Vaccination und vakzinale Allergie*. Leipzig und Wien. Franz-Deuticke, 1907, 194 pages.

observe que toutes ces vaccinations secondaires effectuées sur un point quelconque du tégument, offrent simultanément l'apparition de leur aréole, et cette aréole atteint son maximum au moment où celle de la première vaccination offre elle-même ses plus grandes dimensions. Ainsi, ce maximum de l'aréole est atteint au onzième jour pour la lésion primaire vaccinale, au contraire pour les vaccinations secondes, il est atteint dans un laps de temps qui va en décroissant suivant le moment où chacune des insertions ultérieures a été pratiquée, soit 10, 8, 6, 4, 2 jours.

Mais à partir du moment où l'aréole de la première vaccination est constituée, toutes les vaccinations ultérieures vont présenter un type nouveau de réaction ; elles n'aboutissent plus à une différenciation entre l'élément périphérique, l'aréole et l'élément central, la papille, elles restent au stade de papule simple, mais cette papule apparaît au bout de quelques heures et atteint son maximum de développement en 24 heures pour entrer ensuite en régression, cette réaction immédiate appelée par Pirquet, *réaction précoce*, est la traduction clinique pour ainsi dire constante des revaccinations pratiquées après la première insertion de vaccin.

Mais lorsque les deux inoculations sont faites à court intervalle la réaction précoce est souvent si peu marquée qu'elle se confond avec la lésion traumatique ; elle devient au contraire beaucoup plus nette si la revaccination est pratiquée quelques semaines après la vaccination, elle est alors représentée par une papule typique faisant toute son évolution en 20 ou 30 heures.

Si enfin la revaccination est faite chez un individu vacciné pour la première fois il y a plusieurs années, la

réaction obtenue se différencie à nouveau en papille et aréole, mais l'aréole apparaît plus précocement que dans la primo-vaccination et la papille est rapidement arrêtée dans son évolution. C'est ce que Pirquet dénomme la *réaction accélérée*, qui se rapproche, on le voit, du type de la vaccination primaire. L'individu immunisé peut donc encore réagir à la vaccine et cette aptitude peut être aiguisée par la répétition des revaccinations.

Pirquet faisant des insertions vaccinales répétées sur son propre bras plaçait cette région de son corps en un tel état d'hypersensibilité que l'insertion vaccinale déterminait en 12 heures l'apparition d'une papule mesurant 7 millimètres de diamètre, alors que semblable dimension n'est obtenue par une primo-vaccination qu'au bout du septième jour. Il est même possible de raccourcir le temps qui sépare l'inoculation de celui de l'apparition de la papule et de le réduire à 3 ou 4 heures. C'est ce que Pirquet appelle la *réaction hyperergique*.

Il faut déduire de ces constatations que l'individu en état de protection vaccinale n'a pas, vis-à-vis de la vaccine, une immunité complète ; au contraire, il semble avoir, dans son sérum, des anticorps non immunisants, mais prédisposants. Aussi, il convient, selon Von Pirquet, de remplacer le mot immunité par celui d'*allergie*, terme qui ne signifie pas autre chose que d'indiquer, de par son étymologie, la propriété d'un organisme déjà infecté, de réagir différemment à une deuxième infection.

Les réactions vaccinales allergiques se caractérisent par quatre notions :

1° La réaction est précoce ou accélérée, différant donc

beaucoup du temps d'évolution normale d'une primo-vaccination ;

2° Tandis que cette primo-vaccination se différencie en papille et aréole, la réaction précoce ne donne qu'une papule ;

3° Enfin les réactions allergiques vaccinales se limitent à un processus purement local évoluant en un jour et ne s'accompagnant pas de symptômes généraux ;

4° La réaction allergique est en rapport avec la quantité du vaccin inséré, alors que cette quantité est indifférente pour la primo-vaccination.

L'interprétation de la réaction précoce a été très discutée. Kraus critiqua sa spécificité, pensant qu'elle était provoquée par les substances quelconques contenues dans la lymphe.

Von Pirquet (1) montra qu'elle était bien spécifique et que ni les bactéries, ni le sérum bovin employé seul ne pouvaient la déterminer. Aujourd'hui, sa spécificité n'est plus mise en doute par personne, mais son interprétation reste difficile à préciser exactement.

Pour Wolf-Eisner (2), la réaction précoce serait due à des anticorps bactériolytiques libérant l'endo-toxine contenue dans le vaccin. La répétition des vaccinations exagère la production de ces lysines et, par conséquent, la mise en liberté de l'endo-toxine.

Celle-ci, point capital de la théorie de l'auteur, déter-

(1) VON PIRQUET. Ist die vaccinale Frühreaction spezifisch ? *Wiener klinische Wochenschrift*, 1906, n° 47, p. 1407.

(2) WOLF-EISNER. Über Grundgesetze der Immunität : *Berliner klinische Wochenschrift*. Bd. XLI, 1904, S. 1105-1131, 1156-1273.

minerait, par elle-même, le phénomène inflammatoire réactionnel.

Süpfle admet la conception de Wolf-Eisner et prétend que des phénomènes bactériolytiques seuls peuvent expliquer les réactions d'allergie.

Pirquet croit que cette théorie est insuffisante ; en effet, la réaction précoce, s'il y avait seulement de la bactériolyse, dépendrait *quantitativement* de la *quantité* d'anticorps, et, à dose de virus égale, la plus forte réaction précoce surviendrait chez celui qui a le plus d'anticorps. Par conséquent, on devrait s'attendre à ce que la réaction se montrât avec plus d'intensité et de rapidité les premiers temps après la première vaccination, pour décroître rapidement. Or, c'est l'inverse : la fréquence de la réaction précoce se voit surtout dans les premières semaines et les premiers mois et on ne l'observe pas, ou seulement atténuée, dans les premiers jours après une première vaccination.

M. Nicolle (1) explique la réaction précoce d'après sa théorie générale : « il s'agit d'une pure question de lysine » et de poison libéré d'une façon plus ou moins précoce, « et partant, en plus ou moins grande quantité. »

Cette interprétation est justiciable des mêmes remarques que la précédente.

Pirquet explique le phénomène qu'il a décrit par la notion de deux types d'anticorps. Il existe chez le vacciné, d'après lui, des anticorps « contre la substance d'enveloppe » ils ont un caractère lysinant et des anti-

(1) *Annales Institut Pasteur*, 28 février 1908, p. 160.

corps « contre le contenu », ils ont un caractère antitoxique.

Si, immédiatement après la première vaccination, on n'observe qu'une réaction allergique minimale consécutive à une nouvelle insertion, c'est bien parce qu'il y a présence simultanée et en quantité égale des deux types d'anticorps.

Au bout d'un temps relativement très court, l'anticorps antitoxique disparaît ou faiblit, les bactériolysines prédominent, et, à la suite d'une inoculation secondaire de vaccin, on observe une *réaction précoce* nette.

Mais cette réaction, point essentiel dans la conception de Pirquet, n'est pas due à la substance toxique libérée et agissant par elle-même, elle est provoquée par la combinaison de cette substance avec l'anticorps déjà existant : il apparaît ainsi un corps nouveau produisant immédiatement la réaction clinique.

D'après Pirquet, les revaccinations successives excitent localement la formation des anticorps d'enveloppe. Ce qui explique l'hypersensibilité locale, et la réaction hyperergique.

Généralisant sa conception, l'auteur admet que les anticorps apparaissant de bonne heure, jouent un rôle dans l'évolution même de la lésion de primo-vaccination : la réaction aréolaire serait due, pour lui, à des substances toxiques engendrées par le contact de la lymphe avec les anticorps spécifiques.

L'explication des phénomènes de revaccination donnée par Von Pirquet, n'est qu'une application particulière de sa théorie générale, et si féconde de l'allergie.

Cette conception séduisante, basée sur de nombreuses

constatations cliniques, interprète toute une série d'états morbides : Maladie du sérum, réactions tuberculiniques, manifestations scarlatineuses, etc.

Nous aurons plus loin à schématiser cette théorie ; cherchant à interpréter nos faits expérimentaux, nous comparerons alors les résultats que nous avons obtenus, et les conceptions de Von Pirquet.

En face des données cliniques qui ont permis de reconnaître l'état de protection vaccinale et en même temps l'état d'allergie, il faut chercher par l'expérimentation le caractère des anticorps qui sont acquis à la suite d'une première vaccination et de l'infection variolique.

Par quelles techniques ces anticorps peuvent-ils être mis en évidence ?

Si l'on veut saisir comme témoin de l'immunité conférée par la vaccine et la variole, la présence dans le sérum d'anticorps spécifiques, on peut théoriquement, au moins, s'adresser à plusieurs procédés. Il y a lieu de rechercher la présence :

- 1° de précipitines ;
- 2° de substances virulicides neutralisant le vaccin ;
- 3° de sensibilisatrices acquises et décelables par la réaction de fixation.

La recherche des précipitines a été tentée par quelques auteurs. Tanaka (1) est arrivé à en déceler, en mélangeant du sérum humain de vacciné à une lymphe animale ; il obtenait ainsi un louche du mélange qu'il pensait caractéristique du phénomène de précipitation.

(1) TANAKA. Über die Untersuchung des Pockenerregers. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. 32. 1902, p. 726-732.

Prowazeck nie l'intérêt de cette recherche, et met en évidence toutes les causes d'erreur résultant de la difficulté qu'il y a à obtenir une lymphé suffisamment limpide.

Cependant Freyer (1) en retrouve l'existence. Il voit que le sérum du lapin immunisé avec la lymphé de génisse donne la réaction de précipitation avec cette même lymphé, diluée jusqu'à 1/500.

Le sérum du veau vacciné ne donne pas de résultat vis-à-vis du vaccin de génisse ; il y a peut-être lieu de se demander si, dans cette expérience de Freyer, la précipitation était spécifique pour le virus vaccinal inoculé, ou n'était pas simplement une réaction due à l'introduction d'une albumine étrangère.

Von Pirquet ne retrouve pas de précipitine dans le sérum des sujets vaccinés vis-à-vis de la lymphé de génisse.

Personnellement nous avons recherché ces réactions précipitantes sans jamais pouvoir déceler des phénomènes suffisamment nets pour en faire état. Les suspensions de lymphé vaccinale sont nécessairement opalescentes, et il est impossible de juger s'il y a réellement précipitation.

Au contraire, les réactions basées sur l'existence d'une substance antivirulente fournissent les plus précieux résultats.

Béclère, Chambon et Ménard (2) ont, comme nous l'avons déjà vu, montré qu'en inoculant le sérum d'une génisse vaccinée à une génisse neuve, on peut lui conférer une

(1) FREYER. Das Immunserum der Kuhpockenlymphe. *Centralblatt für Bakteriologie*, 1904. Bd. 36, S. 272-282.

(2) BÉCLÈRE, CHAMBON, MÉNARD. Etudes sur l'immunité vaccinale. 2^e et 3^e Mém. *Ann. Institut Past.*, 1898, p. 839. 1899, février.

immunité même totale. Il existe donc une substance immunisante que l'on peut retrouver chez l'homme, le bœuf et le cheval ; ces substances apparaissent dans le sérum, que le vaccin soit inoculé dans l'organisme par la voie sous-cutanée, ou intraveineuse, et que l'infection vaccinale s'accompagne ou non d'éruption cutanée. Mais ces substances immunisantes existant dans le sérum de l'animal vacciné, ont des propriétés antivirulentes qui représentent le phénomène humoral le plus caractéristique de l'immunité conférée par le vaccin.

En effet, Bécclère, Chambon, Ménard, ont vu que lorsqu'on met en contact le sérum du vacciné avec du vaccin, ce dernier perd toute sa virulence et ne peut plus servir à une vaccination d'épreuve.

Cette découverte capitale fut particulièrement féconde : Elle orienta tous les travaux sur la vaccine et son immunité : elle est la base de toutes les recherches récentes sur le mécanisme de la protection vaccinale ou variolique.

A la même époque d'ailleurs, Sternberg (1) a montré qu'une goutte de vaccin mélangée à 4 gouttes de sérum de veau vacciné depuis 14 jours perd, au bout d'une heure de contact, la propriété de provoquer une éruption vaccinale. Bécclère et ses collaborateurs ont vu que la propriété antivirulente du sérum n'apparaissait qu'après un temps variable suivant l'animal vacciné. Ils l'ont surtout étudiée chez la génisse. Cet animal vacciné par la

(1) STERNBERG. Wissenschaftliche Untersuchungen über das spezifische Infektionsagens der Blattern und die Erzeugung künstlicher Immunität gegen diese Krankheit. *Centralblatt für Bakteriologie*, t. XIX, 1896, S. 803-857.

voie épidermique habituelle ne présente un pouvoir virulicide qu'après une incubation de 12 jours en moyenne. Ce pouvoir apparaît précisément au moment où le virus déposé dans la peau perd toute activité ; c'est dans les mêmes délais qu'apparaît la substance antivirulente dans le sérum de la génisse inoculée sous la peau.

Chez l'homme, le sérum devient virulicide du douzième au quatorzième jour. Il n'y a aucun rapport entre l'apparition de cette propriété du sérum et le processus éruptif, car l'exanthème n'est pas nécessaire à sa manifestation. Cependant, pour la génisse, le pouvoir apparaît surtout à la fin de l'éruption. D'une façon générale, il y a parfaite concordance entre l'apparition de la propriété antivirulente et la disparition de la virulence du vaccin intradermique.

Il est plus difficile de saisir exactement le moment où disparaît cette propriété du sérum chez les animaux vaccinés. Chez le cheval, la période d'immunité ne dépasse guère un an. Le pouvoir antivirulent se montre pendant plusieurs mois, mais pour s'affaiblir lentement vers la fin de la première année, ou au cours de l'année suivante. L'immunité tout en décroissant avec ce pouvoir ne disparaîtrait pas avec lui. Pour Bécclère, Chambon et Ménard, l'homme vacciné présenterait deux phases de durée variable : une où l'état réfractaire coïncide avec l'existence de la propriété virulicide, l'autre, où cette propriété semble avoir partiellement ou totalement disparu, tandis que l'immunité demeure suffisante pour qu'une nouvelle revaccination échoue.

On a pu cependant observer des cas où le sérum des

sujets vaccinés tuait encore le vaccin, 25 et même 50 ans après la première vaccination. Cette notion du pouvoir virulicide explique que les mères puissent transmettre à leurs enfants une immunité passive et transitoire.

Pour Bécclère et ses collaborateurs, l'immunité cutanée pourrait donc se prolonger au-delà de l'immunité sanguine. Cette conception est, à l'heure actuelle, assez généralement infirmée. Il semble, en effet, qu'expérimentalement, si l'on suit pendant longtemps l'animal vacciné, on note que l'immunité de la peau commence à fléchir, alors même que le sérum demeure anti-virulent.

L. Camus (1) a bien montré ce phénomène et insiste sur ce fait que la propriété antivirulente doit non-seulement exister, mais encore atteindre un certain degré pour que l'immunité soit totale. A mesure que cette propriété régresse, l'état réfractaire s'atténue.

Chez les varioleux, on observe également l'action antivirulente du sérum, mais pour Bécclère, Chambon et Ménard, elle n'apparaît qu'assez tardivement vers le vingtième jour. Personnellement nous avons observé son existence dès la période de suppuration de l'éruption variolique, et cela avec une netteté indiscutable.

Chez le singe inoculé de variole sous l'épiderme, Bécclère et ses collaborateurs n'ont pu déceler l'action virulicide qu'à partir du quatorzième jour.

Ces auteurs, avec M. Jousset, ont cherché à préciser la nature de la substance antivirulente des vaccinés. Très stable, elle résiste au temps, à la lumière, à la

(1) L. CAMUS. De l'action antivirulente des humeurs des animaux vaccinés.
2^e Mémoire. *Journal de physiologie et de pathologie générales*, 1909, p. 429.

chaleur, aux moisissures, et même aux agents de putréfaction. Desséchée, elle supporte une température de 100° pendant 38 minutes, sans rien perdre de son activité, et ne paraît pas complètement détruite à 125°. Elle traverse les filtres de porcelaine, mais ne paraît pas dialyser; elle est précipitée par l'alcool et les matières albuminoïdes du sérum, elle semble s'attacher à la globuline à l'exclusion de la sérine. De nature encore indéterminée, elle présenterait de grandes analogies avec les diastases.

Contrairement à ces recherches J. Rehns et Chaurmîer (1), reprenant des expériences sur le même sujet, nient totalement l'action virulicide du sérum des vaccinés, car, pas plus au contact *in vitro* que séparément *in vivo*, le sérum des vaccinés n'influence nettement la lymphe vaccinale. Pour eux, « le substratum de l'état réfractaire n'est pas dans les humeurs. »

Malgré cette unique dénégation, la propriété antivirulente a été observée par un grand nombre d'auteurs et dernièrement L. Camus (2) démontra son existence et ajouta la notion de son inégale répartition dans les humeurs. Tandis que le sérum sanguin est ordinairement très virulicide, l'humeur aqueuse et le liquide céphalorachidien le sont peu ou pas. Il est à remarquer que ces liquides sont d'ailleurs moins riches en matières albuminoïdes que le sérum sanguin. « Un fait reste acquis c'est que la répartition de la substance antivirulente n'est pas égale dans les humeurs, et quand l'immu-

(1) *Compte-rendu de la Société de biologie de Paris*, 1903, p. 361.

(2) L. CAMUS. Recherches sur la répartition de la substance antivirulente dans l'organisme. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 12 juin 1910.

nité générale est réalisée, il y a des liquides de l'organisme qui en sont encore dépourvus. Cette constatation permet de comprendre pourquoi les différents organes d'un même individu immunisé ne sont pas également sensibles à l'agent infectieux. C'est par exemple le cas de la cornée qui, parfois, conserve une réceptivité manifeste pour le virus vaccinal, alors que la peau est devenue réfractaire à l'inoculation. »

Camus chercha si l'action antivirulente des humeurs peut traverser les filtres, et réalisa pour cela une intéressante expérience. Il introduisit une bougie Chamberland F et une bougie d'allumine A³ remplie d'eau distillée dans la cavité péritonéale d'un animal immunisé. Il observa qu'après un certain temps de séjour dans l'abdomen la substance antivirulente du sang passe à travers la paroi de la bougie, et le liquide qui est contenu devient virulicide. Son pouvoir est supérieur à ce point de vue, à celui du liquide céphalorachidien et de l'humeur aqueuse. Il est vrai qu'il contient aussi une proportion plus forte de matières albuminoïdes.

On peut se demander si l'action antivirulente du sérum neutralise seulement le vaccin ou le détruit en lui enlevant toute possibilité de se développer.

Kraus et Volk (1) ont montré que le vaccin neutralisé par le chauffage à 58° est cependant encore capable de conférer l'immunité au singe. V. Knoepfelmacher (2) en se servant du vaccin chauffé à 68° a fait de semblables

(1) KRAUS et VOLK. Studien über Immunität gegen Variola. *Kais. Acad. Wissens.*, 1907, 66 Abt. III, 306.

(2) KNOEPFELMACHER. Subkutane Injektionen von Kuhpockenvaccine. *Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Therapie*. Bd. 4, 1907.

constatations chez l'homme. Il réalisa même chez ce dernier quelques expériences avec un vaccin neutralisé par du sérum d'individu immunisé. Pour cet auteur, le virus vaccinal qui a subi l'action d'un sérum virulicide, conserve la propriété de donner naissance à de l'érythème et à de l'infiltration quand l'injection est faite dans le tissu cellulaire sous-cutanée. Refaisant des expériences à ce sujet L. Camus observe que « le vaccin neutralisé *in vitro* ne récupère pas dans l'organisme ses propriétés immunisantes ; inoculé sous l'épiderme ou injecté dans les veines, le mélange vaccin-sérum antivirulent semble incapable de protéger contre une vaccination ultérieure. »

De ces expériences il ressortirait que l'action antivirulente du sérum agirait en détruisant le vaccin. Cette action peut être dissociée de la propriété bactéricide vis-à-vis des germes adventices. Cette propriété demeure après l'immunisation ce qu'elle était avant, étant donné que le sérum du sujet neuf est normalement bactéricide ; mais par un chauffage entre 58 et 73°, Camus a montré qu'il était possible de détruire le pouvoir bactéricide sans altérer le pouvoir antivirulent. Il semblerait d'après cette expérience que l'action antivirulente du sérum est indépendante de la présence ou de l'absence d'alexine dans le sérum étudié. Cependant Süpfle (1) envisageant cette question, essaie successivement l'action du même sérum, frais, chauffé à 56-60° et enfin réactivé par addition d'un sérum neuf. Il note que lorsque le contact du vaccin et du sérum se fait dans un milieu privé de complé-

(1) SUPPLE. *Loco citato*, p. 186.

ment, l'action virulicide n'a pas lieu, au contraire, elle apparaît lorsqu'il y a eu addition d'alexine.

Le rôle de l'action virulicide des humeurs dans le mécanisme de l'immunité est bien prouvé par ce fait que, jamais l'humeur aqueuse n'est trouvée nettement antivirulente après la vaccination d'un lapin et que parallèlement la revaccination de la cornée du lapin immunisé demeure possible. Cependant, si expérimentalement on vient à rendre antivirulente l'humeur aqueuse, on détermine consécutivement l'état réfractaire de la cornée. C'est là encore l'expérience réalisée par Camus qui a remplacé l'humeur aqueuse en instillant du sérum de vacciné dans la chambre antérieure de l'œil : ainsi, il put conférer une véritable immunité à la cornée, qui, par cette opération, se trouvait baignée dans un plasma virulicide.

La connaissance de la substance antivirulente du sérum apparaît donc comme une condition fondamentale pour expliquer l'immunité de la vaccine. Il n'est cependant pas possible d'affirmer qu'elle en soit la condition suffisante. Un problème du plus haut intérêt se pose donc ici ; ne faut-il pas considérer à côté de l'immunité humorale une véritable immunité tissulaire ? Camus a observé ^x des faits qui tendraient à le prouver : saignant un animal vacciné jusqu'à la syncope et lui transfusant du sang d'un animal neuf et cela à plusieurs reprises, il est impossible de lui faire perdre son immunité vaccinale et d'autre part, le sang des saignées successives se montre virulicide. L'organisme possède donc la propriété de refaire très rapidement la substance antivirulente. Aussi y a-t-il lieu de se demander si cette substance virulicide

est réellement l'agent de l'immunité vaccinale ou si elle n'est pas le simple indice de l'immunité des tissus. C'est là une question ouvrant un large champ de recherches. Mais nous retiendrons seulement le fait qu'un sujet en état de protection vaccinale possède toujours un sérum neutralisant vis-à-vis du vaccin.

Personnellement, nous avons étudié le pouvoir virulicide de nos animaux en expérience, cherchant à préciser le moment de son apparition, suivant les différentes voies d'inoculation vaccinale, mais surtout nous avons essayé de montrer les rapports qui existent entre les renseignements fournis par cette recherche, et ceux que donne la méthode de la déviation complémentaire.

On trouvera plus loin dans l'exposé de nos expériences les résultats que nous avons obtenus par la recherche systématique de ce pouvoir virulicide. Qu'il nous suffise de dire actuellement que cette action antivirulente est absolument constante, qu'elle est de longue durée et, *fait capital*, qu'elle apparaît très nettement comme caractéristique de l'état allergique.

Comparativement à l'étude du pouvoir antivirulent, on peut chercher encore à déceler les anticorps vaccinaux et varioliques par une méthode plus complexe, nécessitant dans son emploi, et surtout son interprétation, beaucoup de circonspection, c'est la méthode des déviations complémentaires, mettant en évidence des sensibilisatrices spécifiques.

(1) Chez des lapins suivis pendant un an, nous avons constamment retrouvé cette propriété de leur sérum, marchant de pair avec l'insuccès de toute tentative de revaccination.

La réaction de fixation n'a jamais été étudiée en France dans la vaccine et la variole.

A l'étranger, en Allemagne et en Italie, quelques auteurs y ont consacré des études peu documentées d'ailleurs, tant au point de vue de la discussion nécessaire de la méthode qu'à celui des différentes conditions dans lesquelles se présente cette réaction.

Heller et Tomarkin (1) ont recherché l'emploi de la méthode de la déviation complémentaire dans la vaccine. Ils n'ont pas observé de réaction nette et rejettent le procédé en invoquant surtout la difficulté qu'il y a à se procurer un antigène suffisamment clair.

Beintker (2) observa 3 cas de variole donnant une réaction de fixation positive, en prenant de la lymphe vaccinale comme antigène. Enfin, inoculant à un lapin un extrait de rate de varioleux il remarqua que le sérum de l'animal acquérait des sensibilisatrices vis-à-vis de la lymphe vaccinale. Cet extrait splénique ne pouvait être employé comme anticorps vis-à-vis de la lymphe vaccinale, mais servant comme antigène il donnait avec un sérum de varioleux des déviations complémentaires très nettes.

Sugai (d'Ogota) (3), observe la réaction de fixation chez les varioleux avec la lymphe vaccinale ou variolique prise comme antigène. Il en déduit l'unité des

(1) HELLER et TOMARKIN. Ist die Methode Komplementbindung beim hochweis spezifischen Stoffe in Hundswut und Vaccine brauchbar ? *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 1907, S. 795.

(2) BEINTKER. Über das Verhalten der bordetschen Reaktion bei Variola. *Centralblatt für Bakteriologie*, Bd. t. XLVIII, 17 déc. 1908.

(3) SUGAI. Über dem Komplementbindungsversuch bei Variola vera. *Centralblatt für Bakteriologie*, XLIX, 1909, S. 651-653.

deux maladies qui ne présenteraient entre elles que des différences de nature clinique.

Xylander (1) fait les mêmes recherches sur les sujets vaccinés et varioleux ; il emploie la lymphé de veau en solution au 1/40. Il observe la déviation complémentaire 18 fois sur 31 malades. Cette réaction semble moins fréquente dans la vaccine que dans la variole, et il explique cette discordance par ce fait que la variole est une maladie générale et que la vaccine est localisée « sur une petite zone ». Le sérum des varioleux contient une forte dose d'anticorps, dans la vaccine les ambocepteurs ne sont formés qu'en petite quantité.

Dahm (2) emploie dans ses recherches, comme antigène, de la lymphé vaccinale animale diluée à 1/10^e dans l'eau physiologique, et observe une réaction de fixation positive chez le varioleux. Mais cette réaction disparaît vite après la maladie. D'autre part, il y a une déviation complémentaire quand on emploie des extraits aqueux de foie et de rate de varioleux comme anticorps avec de la lymphé variolique comme antigène, et cette déviation n'a pas lieu quand on substitue des extraits de foie ou de rate de sujets normaux ou syphilitiques.

Bermbach (3) se demande s'il existe dans le sérum des sujets vaccinés des ambocepteurs pendant toute la durée de l'immunité. Il n'obtient, par la méthode de

(1) XYLANDER. Die Komplementbindungsreaktion bei Syphilis, Impfcocken und anderen Infektionskrankheiten. *Centralblatt für Bakteriologie* (I Abteilung Originale). Bd. LI, 1909, S. 290-384.

(2) DAHM. Serologische Untersuchungen bei der Variola vera. *Centralblatt für Bakteriologie*, 1909, LI, p. 136-138.

(3) BERMBACH. Untersuchungen über den Impfschutz mittels der Bordetschen Reaktion. *Centralblatt für Bakteriologie*, abt. I orig. Bd. XLIX, 1909, p. 618-620.

déviations, presque aucun résultat, sur 13 vaccinés il ne rencontre la réaction que 5 fois, et il note sa disparition rapide. Il signale enfin la cause d'erreur due aux particules étrangères contenues dans la lymphe, lorsque la dilution n'est pas faite avec soin.

Kryloff (1), dans un récent article, critique les travaux faits sur le sujet et rapporte quelques expériences. Il a employé comme antigène soit l'extrait aqueux de foie de varioleux mort au quatorzième jour d'une variole confluyente, soit le produit desséché d'une pustule variolique, dilué ensuite dans du sérum physiologique, soit l'extrait alcoolique d'une pustule. Les extraits d'organes ne donnèrent pas de résultat. Kryloff observa la réaction de fixation dans la varioloïde et la variole, mais nota sa disparition assez rapide après la fin de la maladie.

D'une façon générale, les précédents auteurs n'ont guère précisé, dans leurs recherches, la durée des réactions de déviation et ils aboutissent à des résultats très opposés ; c'est ainsi que Sugaï « admet » que les anticorps disparaissent au bout de 40 ans ; Xylander ne peut plus les retrouver au bout de sept ans ; Bermbach note leur disparition rapide et voit bien qu'il n'existe pas dans le sérum des sujets vaccinés des ambocepteurs pendant toute la durée de l'immunité reconnue expérimentalement, mais il n'explique pas ce fait. Dahm signale la courte durée des déviations complémentaires chez les varioleux. Il importe enfin de remarquer que ces travaux allemands ne comportent qu'un très petit nombre d'expé-

(1) KRYLOFF. Über die Komplementbindungsreaktion bei der Varioloïde und der Variola-vera. *Centralblatt für Bakteriologie* (Originale), 1909, t. LX, S. 651-671.

riences, toutes réalisées avec des techniques différentes et arbitrairement choisies.

Xylander emploie comme antigène 0,5 d'une lymphé vaccinale diluée à 1/40 ; Sugaï 0,2 d'une lymphé variolique non diluée ; Dahm 0,2 d'une lymphé vaccinale diluée à 1/10 ; Beintker 0,01 à 0,05 d'une lymphé animale vaccinale ; Bermbach 0,1 d'une lymphé vaccinale à 1/50.

Casagrandi (de Cagliari) (1) a signalé la réaction de Bordet et Gengou chez les animaux traités par des filtrats vaccinaux. Mais il n'étudie qu'occasionnellement cette réaction, au cours de ses recherches sur la valeur des lymphes vaccinales filtrées. Il emploie comme antigène de la pulpe vaccinale obtenue en partant d'un tube de vaccin glycérimé mis dans 10 centimètres cubes d'eau salée. Quelquefois, il se sert de vaccin filtré à travers les bougies, dilué dans l'eau distillée, concentré au 1/10 après l'opération et additionné de NaCl pour obtenir une solution isotonique. Dans le premier cas, il prend un centimètre cube de la solution physiologique pour pratiquer les réactions, et dans le second il en emploie deux.

Casagrandi vaccine un chien par inoculation endoveineuse de filtrat vaccinal à travers le Berkefeld W. Après trois injections pratiquées de sept jours en sept jours, l'une de 10 centimètres cubes, l'autre de 20 et la dernière de 30, il ne peut observer la réaction de déviation. Il fait deux nouvelles injections de 40 et de 50 centimètres cubes, la déviation commence à apparaître ; il

(1) CASAGRANDE. Sul conferimento dell'immunità antivaccinale con pus vaccino filtrato attraverso le Berkefeld W introdotte per la via ando venosa e sottocutanèa. *Annali del l'Instituto d'igiene sperimentale*, t. XVII, 1907, p. 551-569.

refait encore quatre autres inoculations de 70, 80, 90 et 100 centimètres cubes, à ce moment le sérum de l'animal dévie très manifestement le complément.

Dans d'autres expériences, il inocula un chien dans les veines en introduisant 150 centimètres cubes de filtrat et en répétant cinq fois de suite l'injection à sept jours de distance. L'animal donnait alors une réaction de fixation positive. De même, un autre chien la présenta après avoir reçu 700 centimètres cubes dans les veines en deux fois à sept jours d'intervalle.

Par la voie sous-cutanée, Casagrandi inocule tous les cinq jours de 20 en 20 centimètres cubes de filtrat et l'animal offre la réaction de Bordet, quand il a reçu un volume de filtrat atteignant 1320 centimètres cubes. Si l'inoculation sous cutanée se fait également tous les cinq jours, mais à la dose constante de 5 centimètres cubes, c'est au bout de la quarante-quatrième inoculation, c'est-à-dire après un volume total de 880 centimètres cubes que la réaction devient positive. Elle demeure au contraire négative, si l'animal reçoit en une seule fois sous la peau le même volume de filtrat vaccinal. L'auteur italien conclut que la même dose introduite en une seule fois n'immunise pas, alors que, divisée en plusieurs fois, elle donne naissance à une réaction de déviation.

Casagrandi n'observe jamais de déviation avec le sérum d'un animal vacciné sur la peau.

Faisant ingérer du vaccin à un jeune chien, il observe huit jours après des sensibilisatrices dans le sérum (1), alors que la peau n'a pas encore acquis l'immunité.

(1) O. CASAGRANDI. Su alcune quistioni relative all'immunità antivaccinale ottenuta col vaccino filtrato attraverso le Berkefeld W. *Annali del l'Istituto d'igiene sperimentale*, t. XIX, 1909, p. 305-324.

Le même auteur (1) a étudié le sérum des varioleux et y a trouvé des anticorps vis-à-vis du vaccin bovin. De même le sérum de chien vacciné dévie le complément vis-à-vis de l'antigène variolique.

Avec beaucoup de prudence, l'auteur ne veut pas déduire de cette double spécificité des sensibilisatrices, à l'identité des deux antigènes, et partant, à l'identité des deux virus (2).

Telles sont les recherches qui, à notre connaissance, ont été faites au sujet de la réaction de fixation dans la variole et la vaccine.

Considérée comme d'aucune, ou de peu de valeur par les uns (Heller et Tomarkin, Bermbach, Süpfle) ; considérée au contraire par d'autres (Beitkner, Dahm, Casagrandi), comme ayant une réelle importance dans la recherche des anticorps vaccinaux, il est assez difficile de se faire une opinion en partant de ces travaux étrangers tous incomplets.

Nous avons déjà insisté sur le petit nombre d'expériences rapportées et sur la diversité des techniques employées sans que, peut-être, des recherches préalables aient été suffisamment faites pour en assurer la valeur.

(1) CASAGRANDE. Sulla filtrabilità del virus valufosa umano et sui rapporti tra questo virus e quello bovino. 2° nota preliminare. *Il Policlinico (Pratica)*, fasc. 13, 29 mars 1908, p. 389-391.

Sull' etiologia del vaiuolo umano, *Policlinico (Pratica)*, fas. 18, mai 1908, p. 561.

(2) CASAGRANDE signale encore la présence de sensibilisatrices chez l'animal vacciné, dans les deux notes suivantes :

1° Sulla filtrabilità del virus vaccinico in *Policlinico pratica*, 1908, p. 560.

2° Sull' immunità antivaccinale. In *Policlinico pratica*, 1908, p. 561.

D'autre part, tous ces travaux étrangers sont incomplets dans la critique que peut soulever l'emploi de la méthode de déviation complémentaire appliquée à ce sujet et, surtout, dans la comparaison qu'il faut établir entre cette réaction et les autres procédés de recherche permettant de déceler l'état d'immunité.

Les auteurs précédents n'ont envisagé qu'une partie de la question, aucun d'eux n'a fait l'étude comparative de la réaction de fixation et du pouvoir antivirulent, aucun encore n'a recherché le rapport qui peut exister entre ces phénomènes humoraux et les phénomènes cliniques de la revaccination; aucun d'eux enfin, ne s'est demandé si, dans les réactions obtenues il n'y avait pas à faire intervenir, jusqu'à un certain point, le rôle des albuminoïdes introduit dans les opérations de vaccine expérimentale.

Pour tirer des conclusions intéressantes au sujet des déviations complémentaires, il faut faire une étude d'ensemble de toutes les propriétés humorales du vacciné et du varioleux. Il faut rechercher le moment d'apparition de disparition de la réaction de fixation, son parallélisme avec le pouvoir virulicide, son existence dans les différents modes de vaccination cutanée ou non tégumentaire et déterminer si la quantité d'antigène introduite ou la répétition des doses peut la modifier. Enfin, plaçant le problème au-dessus de la constatation simple du fait, il faut par l'étude en série des sujets, ou des animaux en expérience, rechercher d'abord la valeur clinique et pratique attachée à la présence des substances sensibilisatrices, et ensuite tenter, au point de vue théorique, d'attribuer à ces substances une signification dans l'évo-

lution de la maladie vaccinale et variolique, ou dans la constitution de l'état d'immunité qui leur succède.

L'étude critique précédente suffit à montrer que les propriétés humorales acquises à la suite de la vaccine et de la variole n'ont jamais été envisagées que partiellement dans des recherches incomplètes et disparates : il importe d'aller plus loin ; des questions se posent qui n'ont pas été abordées, ce sont celles que nous avons signalées dès notre introduction.

Par de nombreuses expériences nous nous sommes efforcés d'établir les techniques, et surtout de préciser le caractère des réactions obtenues en les étudiant parallèlement et comparativement.

Nous allons exposer dans les chapitres suivants l'ensemble de nos recherches sur les réactions humorales de la vaccine humaine ou expérimentale et de la variole.

Nous envisagerons ensuite l'interprétation générale qui découle de nos faits expérimentaux.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

RECHERCHES SUR LES RÉACTIONS HUMORALES DE LA VACCINE

SOMMAIRE

I. — Généralités et techniques. Le fait clinique. Rapport à établir entre l'état allergique et les réactions observées. — Nécessité de recherches expérimentales. — Description de nos techniques. — Recherches du pouvoir anti-virulent. — Réaction de fixation. — Préparation de l'antigène. — De la nature des témoins.

II. — Réactions humores chez les sujets vaccinés. — Observations cliniques. *Résumé des faits*, p. 73. Réactions du nourrisson né d'une mère immunisée.

III. — Réactions humores dans la vaccine expérimentale cutanée. — Faits observés chez la génisse, le singe, le chien et le lapin.

Résumé des faits, p. 87.

IV. — Réactions humores dans la vaccine expérimentale non tégumentaire. — Discussion sur la nécessité de l'acte épidermique. — Critique des travaux.

A. Recherches expérimentales sur la vaccine sous-cutanée. — Observations des lapins différemment inoculés n° 9, 10, 80 A, 82 A, 96, 97, 98, 99.

Résumé des faits, p. 99.

B. Recherches expérimentales sur la vaccine endoveineuse. — Observations des lapins différemment préparés n° 1, 63, 64, 65, 66, 74, 78, 79, 80, 85, 86, 91 bis. — Recherches de contrôle : lapins 75, 87, 88, 90, 91.

Résumé des faits, p. 112.

C. Recherches expérimentales sur la vaccine digestive. — Observations des lapins différemment inoculés n° A, B, D, E, G, H, O, P, U, V, 40, 41. — Recherches de contrôle : lapins n° 93, 94.

Résumé des faits, p. 125.

D. Recherches expérimentales sur la vaccine péritonéale :

a) Vaccination par sac de collodion.

b) Vaccination directe.

Observations des lapins n° 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 70, 71, 72, 73.

Résumé des faits, p. 139.

V. — Expérience sur la recherche des anticorps vaccinaux dans les organes, suivant les voies d'inoculation. — Abscès de fixation. — Immunité passive.

Résumé des faits, p. 150.

VI. — Recherches témoins. Leur nature.

I. — Généralités et techniques.

Dans nos recherches sur les réactions humorales de la vaccine, nous sommes partis d'un fait clinique et expérimental maintes fois observé.

Des malades ayant été vaccinés quelque temps auparavant et qui, entre nos mains, présentaient à une insertion secondaire de vaccin, le type de la « réaction précoce », avaient toujours leur sérum doué d'un pouvoir nettement antivirulent, mais il ne déviait pas le complément vis-à-vis de la lymphe vaccinale. Au contraire, nous pouvions observer cette déviation de l'alexine d'une façon précoce et transitoire, au moment où, dans les quelques jours qui suivent une vaccination, le phénomène de Von Pirquet n'est pas dissociable de la réaction traumatique.

Une question d'ordre très général se posait donc : quelle est la signification du phénomène de Von Pirquet envisagé dans ses rapports avec les propriétés acquises du sérum d'un sujet vacciné ?

D'autre part, la réaction de fixation que nous employons est-elle capable de mettre en évidence les substances qui créent l'état d'allergie ou n'est-elle en rapport qu'avec la période d'infection et d'évolution vaccinale, à laquelle succède ultérieurement cet état allergique ?

Pour étudier ces questions, il fallait rechercher les propriétés du sérum de l'individu vacciné depuis un temps variable, en essayant parallèlement de déterminer chez lui le phénomène de Pirquet. Il fallait enfin établir la valeur respective des différentes réactions observées.

Nous avons cherché à la préciser par des vaccinations expérimentales, en modifiant pour chaque voie d'inoculation du vaccin, les doses employées et le nombre des injections.

Nous avons constamment comparé les résultats obtenus par la déviation complémentaire avec ceux parallèlement fournis par l'étude du pouvoir antivirulent.

Dans toutes ces recherches il ne faut pas oublier que l'on se trouve sans cesse sur un terrain fort dangereux : nous avons déjà montré que la lymphé vaccinale est un complexe et qu'il faudra tenir compte des substances albuminoïdes inoculées avec le virus vaccinal.

Aussi est-il indispensable de pratiquer un nombre considérable de recherches témoins pour bien déterminer ce qui appartient en propre aux anticorps du vaccin et non des albuminoïdes.

Nous indiquerons d'abord la technique générale employée dans nos recherches sur le pouvoir virulicide du sérum. La mise en évidence de la substance antivirulente a été constamment pratiquée selon le procédé que nous a communiqué le regretté professeur Kelsch.

On fait une solution de vaccin au 1/100, en partant d'un tube de vaccin glycérimé du commerce. Nous avons toujours employé pour cela le vaccin de l'Institut de vaccine animale de la rue Ballu.

On prend un centimètre cube de cette solution que l'on mêle à 5 centimètres cubes du sérum à étudier ; on prend également 1 centimètre cube de la solution vaccinale pour l'étendre de 5 centimètres cubes de sérum physiologique. Ces deux mélanges sont placés pendant une demi-heure ou trois quarts d'heure à l'étuve à 37°.

La vaccination avec le mélange d'épreuve est ensuite faite sur un lapin d'après la technique de Calmette et Guérin. L'animal est rasé sur le dos (on a soin de prendre un lapin ne présentant pas de *nœvus* sur le tégument) de façon à irriter la peau : celle-ci étant bien tendue, on mesure au centimètre un espace que l'on peut subdiviser pour l'essai de plusieurs échantillons.

La vaccination est pratiquée avec une pipette par simple grattage de la peau, en évitant de faire des scarifications trop profondes.

Il faut avoir soin de mettre la même quantité de liquide pour chaque échantillon.

Enfin, pour chaque animal il importe de faire une zone témoin vaccinée avec le mélange indiqué plus haut (eau physiologique-vaccin).

Vers le cinquième ou sixième jour les résultats peuvent être lus.

On compte les papules apparues sur chaque zone et connaissant leur superficie, on ramène le nombre des éléments au centimètre carré.

A plusieurs reprises, nous avons essayé le sérum normal par comparaison avec le sérum à étudier et la solution de vaccin dans l'eau salée : il peut exister de très légères différences entre cette dernière solution et le mélange sérum normal-vaccin, c'est-à-dire que l'érup-

tion peut être un peu plus forte quand le vaccin est dilué dans l'eau physiologique, que lorsqu'il se trouve en contact avec le sérum normal ; mais cette différence est toujours minime, et jamais un sérum neuf ne se montre antivirulent.

La technique de la réaction de fixation est au contraire beaucoup plus complexe.

On sait en quoi consiste cette fixation dont nous allons rapidement rappeler le mécanisme.

Quand, *in vitro*, un antigène est mis en présence du sérum renfermant la sensibilisatrice spécifique, c'est-à-dire l'anticorps correspondant, il se constitue un mélange antigène-sensibilisatrice, qui est un *mélange fixant capable de fixer* l'alexine ou complément, en sorte que cette alexine n'est plus décelable dans le milieu.

Donc, pour savoir si le sérum étudié contient une sensibilisatrice vis-à-vis de l'antigène employé, il faut constater si l'alexine a disparu par fixation ou déviation.

Pour cela, on ajoute un mélange réactif constitué par des globules rouges et un sérum hémolytique chauffé : si ce mélange trouve de l'alexine dans le milieu, c'est qu'elle n'a pas été déviée, il se produira une hémolyse et on en déduira que le sérum étudié ne contenait pas de sensibilisatrice.

Au contraire, si le mélange réactif ne rencontre plus d'alexine, c'est qu'elle a été fixée, il ne se produira plus d'hémolyse, et on déduira que le sérum étudié contenait une sensibilisatrice.

Ce résumé rapide suffit à nous montrer les éléments nécessaires pour pratiquer une réaction de fixation ; il faudra donc :

Le sérum à étudier,
Un antigène,
Une alexine ou complément,
Un groupement réactif, globules rouges, sérum hémolytique.

Dans nos réactions, nous nous sommes toujours servis comme globules rouges, de ceux du mouton ; comme sensibilisatrice, du sérum de lapin anti-mouton chauffé et rigoureusement titré.

Comme alexine, nous avons employé le sérum de cobaye, utilisé au bout de 4 heures, pur et à la dose de 0,1.

Le sérum à étudier était pris à la dose de 0,2, après l'avoir inactivé à 56°, pendant une demi-heure. En effet, il nous a toujours semblé préférable de détruire l'alexine normale par le chauffage, pour ajouter un alexine, toujours la même, et susceptible d'être titrée avant l'emploi.

Pour nous assurer que le sérum en expérience était complètement inactivé, nous faisons, dans toutes nos recherches, un tube témoin contenant : antigène, sérum, globules rouges, sensibilisatrice. Si le chauffage était bien fait, il ne se produisait pas d'hémolyse.

La seule difficulté était de trouver l'antigène à employer.

Il nous a semblé que les résultats si imprécis et discordants des quelques auteurs qui ont rapporté des faits expérimentaux, tenaient principalement à une technique insuffisamment réglée ; nous nous sommes efforcés de l'établir avec plus de rigueur.

Nous avons d'abord employé du vaccin de lapin en

solution aqueuse dans du sérum physiologique ; le titrage de cet antigène montre que l'on peut employer jusqu'à 1 centimètre cube de la solution à $1/50$, sans obtenir la moindre déviation. Ce vaccin de lapin a été essayé en solution alcoolique au $1/10$ et diluée au moment de l'emploi à $1/2$, $1/3$ et $1/10$. Les résultats obtenus avec cet antigène ne furent pas satisfaisants.

Nous avons essayé le vaccin humain obtenu par raclage des pustules et broyé au mortier, puis dilué dans le sérum physiologique. Nous avons abandonné cette technique pour deux raisons : la difficulté d'avoir des pustules au moment voulu, et enfin la difficulté qu'il y a à faire cette récolte chez des malades, pour obtenir une quantité suffisante de lymphé.

Nous avons essayé de préparer notre antigène en partant du vaccin glycérimé. Nous avons suivi la technique de Casagrandi, telle qu'il a bien voulu nous l'adresser par une lettre personnelle.

Nous résumerons la technique : le contenu pesé, d'un tube de vaccin, et mis dans du sérum physiologique, à raison de 1 p. 50 ; il est centrifugé à trois reprises en changeant la solution salée ; le dépôt du vaccin provenant de la centrifugation est trituré au mortier en y ajoutant une quantité de sérum physiologique, de façon à porter la dilution à un rapport qui ne dépasse pas 1 p. 20. Une nouvelle centrifugation est faite de façon à obtenir un liquide seulement opalescent.

Le vaccin préparé selon cette technique peut être employé à forte dose. En effet, on n'observe de déviation spontanée qu'en atteignant le taux de 1 centimètre cube $1/2$ environ.

Mais l'antigène ainsi obtenu, ne nous a pas toujours donné de résultat précis, aussi nous nous sommes surtout servis du vaccin frais de génisse qui a paru, dans toutes nos recherches, comme très nettement supérieur aux autres préparations vaccinales.

Ce vaccin frais nous fût très gracieusement donné par M. le docteur Fasquelle, directeur de l'Institut de vaccine de la rue Ballu. Nous ne saurions trop lui exprimer notre vive gratitude pour l'aimable obligeance avec laquelle il a toujours répondu à nos si fréquentes demandes de matériel.

On recueille la pulpe des pustules vaccinales de la génisse au quatrième ou cinquième jour, la récolte a toujours été employée dans les deux heures qui ont suivi la prise; la pulpe est pesée, elle est finement et longuement broyée dans le mortier, de façon à obtenir une substance bien homogène. On met du sérum physiologique en proportion de 1 p. 50, en ayant soin de ne l'ajouter que lentement, à mesure que le broyage se poursuit. Quand l'émulsion est faite, le tube est placé à la glacière pendant une 1/2 heure ou 1 heure, afin de laisser déposer les particules un peu volumineuses. Une centrifugation rapide est ensuite faite, pour obtenir un liquide surnageant, à peine opalescent; ce liquide est employé immédiatement, aucune de nos expériences ne fut faite avec un liquide même de la veille et conservé à la glacière.

Titrage. — 1° L'émulsion vaccinale fraîche ne produit jamais à elle seule l'hémolyse; nous avons à plusieurs reprises intercalé dans nos expériences des tubes témoins contenant soit :

a) Antigène, globules rouges, alexine, jamais nous n'avons observé la présence d'une sensibilisatrice à l'égard des globules rouges de mouton constamment employés.

b) Antigène, globules rouges, sensibilisatrice, jamais nous n'avons observé dans notre antigène une quantité d'alexine suffisante pour réactiver l'ambocepteur anti-mouton toujours employé.

2° L'émulsion vaccinale ne dévie pas à elle seule le complément, à moins d'atteindre les doses très élevées de 1 centimètre cube 3, ou 1,5 C³.

Il est de toute utilité que la liqueur opalescente ne contienne pas de particules solides. Nous avons remarqué dans les tubes témoins, des retards quelquefois considérables à l'hémolyse, quand l'émulsion n'est pas soigneusement faite, et la pulpe parfaitement broyée.

Nous avons employé dans les expériences les doses croissantes d'antigène suivantes :

0,1 — 0,2 — 0,3 0,8.

le plus généralement trois tubes nous donnaient satisfaction, contenant chacun les doses respectives de :

0,2 — 0,5 — 0,7 ou 0,3 — 0,6 — 0,8.

comparativement, les résultats sont semblables entre les deux séries.

En général, dans nos résultats, nous avons observé qu'au-dessous de 0,2 la quantité d'antigène est insuffisante et que le résultat est indifféremment le même avec 0,7 ou 0,9. Il y a souvent une progression très nette dans trois tubes et quelquefois les déviations sont absolues dans les deux derniers tubes, alors qu'il y a une légère hémolyse au premier. Ceci nous a souvent permis

de suivre toute l'évolution des réactions apparaissant au troisième tube d'abord, devenant totale dans les trois, disparaissant ensuite au premier et au second, pour demeurer quelque temps encore dans le tube n° 3 contenant la plus forte quantité d'antigène.

Dispositif de la réaction. — Nos réactions de fixation furent toujours faites selon le dispositif de la réaction de Wassermann typique ramenée à 3 centimètres cubes. Nous avons constamment fait la série des témoins, ce qui pour nos expériences était d'une absolue nécessité. Le vaccin que nous employons ne peut être considéré comme toujours identique à lui-même. L'âge de la vaccination (que nous nous efforcions de choisir de 4 à 5 jours) variait de quelques heures. La richesse de la pustule, non toujours semblable, la plus ou moins grande quantité de matières organiques recueillie avec la pulpe, tout cela introduisait forcément dans nos expériences des causes d'erreur dont nous nous rendons compte, et que nous avons tâché d'amender, sans avoir la prétention toutefois d'y être totalement parvenu.

Aussi, à chaque expérience, avons-nous répété les tubes témoins qui constituent un titrage incessamment refait.

Des cinq tubes témoins, trois étaient destinés à prouver que les doses respectives d'antigène employées étaient incapables de dévier à elles seules le complément. Le quatrième tube vérifiait la valeur du groupement hémolytique. Le cinquième prouvait que la sensibilisatrice était bien inactivée.

Les tubes de la réaction étaient également pour chaque

sérum à étudier, au nombre de cinq : les trois premiers tubes contenaient l'antigène aux doses croissantes employées dans les tubes témoins. Le quatrième, sans antigène, ne contenant que du sérum et de l'alexine prouvait que le sérum ne fixait pas à lui seul le complément ; le cinquième tube à son tour, prouvait que le sérum était bien inactivé.

Nous résumons dans le tableau suivant le dispositif expérimental :

	TÉMOINS					RÉACTIONS				
Eau.....	1,6	1,3	1	1,8	1,9	1,4	1,1	0,8	1,6	1,7
Antigène.....	0,2	0,5	0,8	0	0	0,2	0,5	0,8	0	0
Sérum.....	0	0	0	0	0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Alexine.....	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0
Globules rouges.	1 ³	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Sensibilisatrice suivant le titrage : 0,1 ou 0,2 au 1/10.

Les réactions restaient toujours à l'étuve à 37° 2 h. 1/2 avant de mettre dans les tubes la sensibilisatrice et les globules rouges de mouton. Cette sensibilisatrice était titrée pour que l'hémolyse se produisit après une demi-heure à l'étuve à 37°.

Les résultats n'étaient lus que lorsque les tubes témoins, ne contenant que l'antigène, et le groupement hémolytiques, étaient complètement hémolysés. Pour qu'il n'y ait aucun doute sur les résultats, nous centrifugions tous nos tubes, nous n'avons appelé positive que la réaction dans laquelle la déviation est absolue, c'est-à-dire où le liquide surnageant ne présente aucune trace d'hémolyse. Quand le sérum est coloré, des tubes témoins permettent de juger par comparaison de l'existence d'une hémolyse légère.

Pour que nos recherches fussent valables, il fallait multiplier les expériences témoins ; nous entendons par cela non seulement les garanties nécessaires du bon fonctionnement de la réaction en elle-même (ce sont les tubes témoins que nous avons signalés plus haut), mais encore les essais pratiqués avec des sérums neufs et aussi avec d'autres antigènes.

A de très nombreuses reprises, nous avons essayé les sérums neufs de lapin, de chien, de singe et de génisse pour nous assurer que spontanément il ne pouvait exister de déviation complémentaire. Dans nos expériences de contrôle, nous avons même recherché si le moment de la prise du sang pouvait, chez l'animal, modifier la réaction comme cela a été judicieusement montré par MM. Bezançon et de Serbonnes, dans l'étude des anticorps tuberculeux chez l'homme. Nous n'avons jamais trouvé de lapin fixant spontanément, quel que soit le moment de la récolte du sang.

Il était plus difficile de trouver une lymphe non vaccinale pouvant servir de témoin à nos réactions ; néanmoins, nous avons essayé, plusieurs fois, de pratiquer comparativement nos recherches avec la lymphe vaccinale fraîche et des exsudats provoqués. Pour cela, nous avons déterminé chez le lapin une irritation en frottant son tégument ventral avec de l'huile de croton ; la vésication qui se produisait amenait un exsudat qui nous servait comme antigène à comparer avec une lymphe vaccinale également de lapin. Nous avons observé que les réactions étaient seulement déterminées par cette dernière. Enfin, nous avons essayé à titre de contrôle, l'emploi comparatif des lymphes de génisse et de lapin.

Or, un animal vacciné avec une lymphé de génisse fournit une réaction de fixation, en prenant comme antigène l'une ou l'autre de ces deux lymphes.

Ces expériences de contrôle, plusieurs fois répétées, ont une valeur réelle, mais si elles sont nécessaires, on ne peut affirmer qu'elles soient suffisantes ; il est cependant impossible d'aller plus loin. Il n'y a pas d'antigène non vaccinal, ne présentant comme seule différence avec la lymphé employée, que l'absence du virus. Toutefois, nous avons tenté de détruire le virus contenu dans la lymphé par le chauffage, et inoculant l'animal avec ce produit modifié, nous n'avons plus observé les réactions qui se voyaient chez l'animal témoin ayant reçu la lymphé non chauffée.

De cette expérience, on pourrait conclure que, si la destruction du virus amène la non apparition de la réaction, c'est que cette dernière est liée à la présence de ce virus. Cette conclusion n'est peut-être pas totalement légitime. Le chauffage a pu modifier d'autres propriétés de la lymphé, et si la réaction n'apparaît pas, peut-être y aurait-il lieu d'incriminer l'état différent physico-chimique sous lequel l'antigène a été introduit dans l'organisme.

Néanmoins, toutes nos recherches étant faites par comparaison, ayant multiplié des témoins de tous ordres, nos expériences, par leur nombre et leur concordance, offrent un intérêt qu'il nous faudra discuter, et nécessiteront une interprétation d'ensemble.

Nos recherches ont demandé une grande quantité d'animaux. Nous ne pouvons cependant fournir pour chaque série un nombre considérable d'expériences.

C'est qu'en effet, pour suivre les réactions humorales de l'animal vacciné, il faut tellement de témoins et de lapins d'épreuve, que nous avons été matériellement limités. On verra qu'un seul sujet étudié plusieurs semaines, nécessite l'emploi de 5 à 6 autres animaux.

Nous présenterons nos faits, en les plaçant de la façon suivante. D'abord les recherches cliniques et expérimentales faites sur les sujets vaccinés, et ensuite les expériences réalisées sur l'animal, en envisageant successivement la vaccination cutanée, et non tégumentaire (sous-cutanée, endoveineuse, digestive et péritonéale).

Un chapitre sera consacré à la recherche des anticorps dans les organes.

II. — Réactions humorales chez les sujets vaccinés.

Ces recherches ont été le point de départ de notre mémoire.

Chez le sujet vacciné, il n'y a réellement qu'une réaction qui peut traduire l'état réfractaire, c'est le pouvoir virulicide du sérum que nous avons constamment rencontré à partir du 10^e ou 12^e jour de la vaccination intra-épidermique.

La réaction de fixation n'apparaît que d'une façon précoce et transitoire, elle peut même manquer. Nous ne rapporterons que les observations suivantes, dans lesquelles il nous a été possible d'étudier en série les propriétés humorales.

OBSERVATION I. — Un malade du pavillon Mourier, à l'hôpital Claude-Bernard, a été vacciné pour la dernière fois en 1906 ; il porte des cicatrices valables au bras gauche. A son entrée, une vaccination d'usage est pratiquée, à laquelle il répond selon le type de la réaction précoce de Von Pirquet, c'est-à-dire que dans les premières 24 heures, on a observé une formation papuleuse qui s'est éteinte en 2 jours. Le sérum de ce malade est pris et essayé sur un lapin, pour déterminer son pouvoir virulicide vis-à-vis du vaccin. Ce pouvoir apparaît très manifeste et on ne compte que 3 papules sur la zone cutanée vaccinée avec le mélange sérum et vaccin ; il y a une éruption confluente sur la zone témoin.

Au contraire, la réaction de fixation pratiquée à ce moment 3 juin 1910, donne un résultat négatif.

OBSERVATION II. — Un malade atteint de rougeole au début de la desquamation, est en pleine éruption vaccinale. Le pouvoir virulicide de son sérum apparaît à peine, il n'y a qu'une différence légère entre la zone témoin et la zone d'épreuve dessinées sur le dos du lapin servant à l'expérience. La réaction de déviation pratiquée chez ce malade le 3 juin 1910, fut totalement négative. Dans ce cas la co-existence de la rougeole enlève, croyons-nous, toute valeur à la réaction de fixation. On connaît, en effet, le rôle empêchant de cette fièvre éruptive dans les diverses réactions humérales. Von Pirquet, puis Teissier et Kindberg, ont montré l'absence de réaction à la tuberculine chez les tuberculeux rougeoleux. M. Teissier a vu également avec Lutenbacher la réaction de Wassermann disparaître momentanément chez les syphilitiques rougeoleux.

OBSERVATION III. — Un jeune enfant est en pleine éruption vaccinale au 8^e jour. Son sérum offre une réaction de fixation nettement positive vis-à-vis d'une lymphé provenant d'un lapin, d'une génisse et également d'origine humaine. Ce sérum ne présentait pas encore à ce moment de propriété nettement anti-virulente (10 juin 1910). Une nouvelle insertion vaccinale est faite à cette date, elle demeure sans aucun effet, pouvant être différencié de la réaction traumatique.

OBSERVATION IV. — Un jeune enfant vacciné depuis 15 jours présente un pouvoir virulicide très net, mais la réaction de fixation est négative le 17 juin 1910.

OBSERVATION V. — Une femme vaccinée depuis 14 jours, ayant eu une éruption très considérable, offre une réaction de fixation positive, vis-à-vis de l'antigène obtenu avec une lymphé de lapin, 17 juin 1910.

OBSERVATION VI. — Un malade du pavillon Mourier a été vacciné pour la dernière fois il y a 8 ans. Sa réaction de fixation est négative, le sérum tue presque complètement le vaccin. La revaccination de ce malade se fait selon le type de la réaction précoce.

OBSERVATION VII. — Un malade atteint d'angine banale est vacciné le 2 janvier 1911. Le 4 janvier, la réaction de fixation est pratiquée en présence d'une émulsion de pulpe fraîche comme antigène. La réaction est positive. Une revaccination est faite le 15 janvier, elle ne fournit aucun résultat. Une nouvelle réaction de déviation est pratiquée 10 jours après, elle est complètement négative. A cette date du 25 janvier, le sérum est très antivirulent.

OBSERVATION VIII. — Un enfant atteint de varicelle, est vacciné le 8 janvier 1911. La lésion vaccinale est fort belle. La réaction de fixation est pratiquée le 14 janvier, elle est positive. A ce moment, le pouvoir virulicide du sérum n'a pas encore apparu. La réaction est refaite le 20 janvier, c'est-à-dire 12 jours après la vaccination, elle est encore totalement positive. A cette date, un nouvel essai du pouvoir virulicide est pratiqué, et cette fois la substance antivirulente existe. On compte sur la zone dessinée sur le dos du lapin servant à l'expérience, 10 papules sur 32 cent. carrés (lapin 55).

Pour une troisième fois, la réaction est refaite le 25 janvier 1911, pratiquée dans les mêmes conditions elle est cette fois complètement négative. Une revaccination à cette date donne une lésion du type décrit par Von Pirquet.

OBSERVATIONS IX et X. — Sujets atteints de varicelle et de scarlatine, au début de l'éruption vaccinale. Réaction douteuse avec hémolyse incomplète.

OBSERVATIONS XI et XII. — Malades du pavillon Mourier, au 12^e jour d'une vaccination, leur sérum donne une réaction de fixation positive vis-à-vis de la lymphe de génisse et de la lymphe humaine. Repratiquée 15 jours après, la réaction devient négative. A ce moment les deux malades réagissent à une nouvelle insertion de vaccin selon le mode de la réaction précoce. Le pouvoir antivirulent de leur sérum n'a pas été recherché (3 février 1914).

EN RÉSUMÉ, si nous retranchons des douze observations rapportées, les observations 9 et 10, où les résultats furent douteux, il nous reste 10 observations parmi lesquelles 6 ont fourni une réaction de fixation positive, et 4 une négative. Or, la réaction de déviation ne s'est jamais montrée qu'avec un double caractère : 1^o *d'être précoce* ; 2^o *d'être transitoire*. Nous l'avons trouvée au 5^e jour d'une vaccination (Observ. 7), et jusqu'au 15^e jour (Observ. 5), mais elle disparaît bientôt, et en 10 jours nous avons suivi chez le malade de l'Observation N° 8 son évolution. Enfin, notons que la réaction de fixation apparaît quelquefois même avant le pouvoir antivirulent, et qu'elle n'accompagne pas la période où une revaccination produit nettement le phénomène de Von Pirquet.

Longtemps après une première vaccination, nous avons observé la substance virulicide, et elle est constante quand le malade réagit à une 2^e insertion de vaccin selon le mode de la réaction précoce.

Ce sont là des constatations dont il nous faudra tenir compte dans l'interprétation ultérieure des différentes réactions humorales du sujet vacciné.

Il était intéressant de rechercher lesquelles de ces réactions on trouverait chez le jeune enfant, né d'une mère immunisée, et qui était dans les conditions à recevoir une immunité passive. C'est là un chapitre que nous n'avons pu qu'accessoirement aborder, à cause de la difficulté qu'il y a à faire des prises de sang chez le tout jeune sujet.

A la Maternité de l'hôpital de la Charité (1), nous avons pris le 7 juillet 1911, le sang d'un jeune enfant (enfant Coet...) qui fut vacciné le 27 juin 1911, à neuf jours, avec un vaccin éprouvé, et qui ne présenta aucune réaction. Nous prenions en même temps le sang de sa mère, qui avait été vaccinée à plusieurs reprises depuis quelques années. Le 26 juin 1911, on lui fit une nouvelle vaccination qui produisit seulement un léger érythème. A la même date 7 juillet nous prenions le sang de l'enfant Poug... qui fut vacciné le 27 juin avec succès, et la mère vaccinée le même jour, présentait également une lésion valable.

Nous avons ainsi des points de comparaison entre le sérum d'un enfant venant d'être vacciné avec succès, et celui d'un autre enfant issu de mère vraisemblablement en état d'immunité, et étant lui-même réfractaire, si on en juge par l'insuccès de la vaccination.

Nous avons étudié parallèlement ces trois sérums.

Le sérum de l'enfant Poug... chez lequel venait d'évoluer une lésion vaccinale, avait un pouvoir virulicide considérable : il ne se produisait aucune papule en vaccinant, avec un vaccin mélangé à son sérum, une zone

1. Nous remercions le D^r TISSIER, accoucheur de la Charité, d'avoir autorisé son chef de laboratoire le D^r GUARD à pratiquer pour nous les émissions sanguines.

du lapin 93 B. Ce même sérum déviait nettement le complément à la même date.

Le sérum de l'enfant Coet... offrait également un pouvoir antivirulent net, quoique un peu moins accusé que dans le cas précédent. La zone d'épreuve du lapin 93 B présentait 7 papules sur 32 centim. carrés : *mais il n'y avait pas de réaction de déviation.*

Quant au sérum de la femme Coet..., il tuait en grande partie le vaccin, on n'observait sur la zone d'épreuve du lapin 93 B que 8 papules sur 32 cent. carrés, alors que la zone témoin (vaccin-eau physiologique) offrait une éruption confluente. *Mais le sérum de cette femme, comme celui de son enfant, ne déviait pas le complément.*

Ainsi donc, le nourrisson immunisé par sa mère, présente manifestement une réaction d'immunité, qui semble bien être le pouvoir virulicide du sérum, mais on n'observe pas chez lui la fixation complémentaire, qui existe chez l'enfant dont l'immunité est acquise, et chez lequel vient d'évoluer une lésion de vaccine.

Il y aurait eu intérêt à poursuivre cette étude à peine ébauchée, pour mieux saisir les différences qui séparent l'immunité passive et active. Nous avons dit la difficulté considérable qu'il y a à prendre en quantité suffisante du sang chez le nouveau-né.

Il était utile de comparer les renseignements fournis par la recherche des réactions humérales chez l'homme vacciné, avec ceux donnés par les mêmes recherches chez les animaux vaccinés expérimentalement.

Nous avons déjà indiqué que nos vaccinations expérimentales ont été faites par diverses voies, et chez diffé-

rents animaux. Nous rapporterons d'abord nos expériences sur les bêtes immunisées par la voie cutanée.

III. — Réactions humorales dans la vaccine expérimentale cutanée.

A de nombreuses reprises nous avons étudié les réactions humorales d'animaux vaccinés sur la peau. Ces recherches ont porté sur une génisse, deux singes, trois chiens et plusieurs lapins.

Nous avons toujours comparé la réaction de fixation et le pouvoir virulicide, en ajoutant souvent même l'étude de la formule sanguine.

Réactions humorales d'une génisse.

Nous avons étudié le sérum d'une génisse non vaccinée (génisse n° 17 de l'Institut supérieur de vaccine de l'Académie de médecine) et le sérum de la même génisse après vaccination.

Il avait été recueilli par ponction de la jugulaire, et nous avait été fourni obligeamment par le professeur Kelsch. L'antigène que nous avons employé pour l'expérience, était une émulsion de pulpe vaccinale humaine fraîchement recueillie, finement broyée et mise dans un serum physiologique à 4 p. 50. Nous avons pris 0,2, 0,3 et 0,6 de cet antigène, après nous être assurés qu'à cette dose il ne produisait point de déviation spontanée. Le sérum de la génisse, avant vaccination, ne fixait aucunement le complément, au contraire, celui de la génisse vaccinée fournissait la réaction suivante le 14 juin 1910 : le tube contenant la plus faible quantité d'antigène était hémolysé, mais il y avait déviation complète aux deux autres tubes. Toute la série des témoins était valable.

Le pouvoir virulicide du sérum de cette génisse fut recherché sur un lapin, et très nettement mis en évidence.

Avec ces deux sérums (avant et après vaccination), nous avons étudié la valeur des différents antigènes que nous avions à notre disposition : faisant la réaction avec une solution aqueuse de poudre de vaccin à 1, 10, et employée en échelonnant les doses de 0,1 à 0,6, nous n'avons pas obtenu de déviation nette ; il en fut de même avec un antigène préparé en partant d'un tube glyciné. Cette expérience montrait donc la supériorité des lymphes fraîches employées comme antigène dans les réactions de fixation.

Réactions humorales des singes vaccinés.

Nous avons étudié deux singes, jadis variolisés et vaccinés au cours d'anciennes expériences faites par MM. Teissier et Duvour.

SINGE N° 1. — Ponctionnant sa fémorale, le sang est recueilli aseptiquement et le sérum inactivé :

La réaction de fixation est faite le 21 juillet 1910, en présence d'un antigène préparé en partant d'une lymphe humaine et d'une lymphe de lapin : elle fut complètement négative.

A la même date, le sérum de cet animal offrait un pouvoir anti-virulent de moyenne intensité.

SINGE N° 2. — Cet animal avait été variolisé et vacciné antérieurement (son histoire a été publiée dans le *Journal de physiologie et de pathologie générales*, le 15 mai 1911).

Le 13 février 1911, une réaction de fixation est pratiquée en présence de pulpe fraîche de génisse comme antigène : elle fut complètement négative.

Le sérum de cet animal, au même moment, tuait faiblement le vaccin.

On pratique alors sur son dos 10 traits de scarification, en y étalant de la pulpe glycinée avec une spatule.

Le 25 février, on note sur deux traits de scarification deux très belles pustules vaccinales, on en compte encore quelques-unes mal

venues et desséchées dès le 5^e jour. Le 1^{er} mars, l'animal est ponctionné à nouveau.

Le 2 mars, la réaction de fixation est pratiquée, elle est très nettement positive.

Le 25 mars, une nouvelle recherche est faite, la réaction est encore positive, mais il y a au premier tube un commencement d'hémolyse.

Nous n'avons pu suivre davantage l'évolution de cette réaction chez l'animal, par suite de la difficulté qu'il y a chez le singe à faire des prises de sang en série.

Le 1^{er} mars, on fait une nouvelle recherche du pouvoir virulicide du sérum de ce singe ; il apparaît à ce moment beaucoup plus manifeste que lors de la première épreuve.

Etude du sang.

A la date du 16 février, le singe n° 2 présente la formule sanguine suivante :

Polynucléaires.....	33 %
Grands et moyens mononucléaires... ..	63 %
Lymphocytes.....	4 %

A la date du 2 mars, après la vaccination, on trouve :

Polynucléaires.....	30,5 %
Grands et moyens mononucléaires... ..	65 %
Lymphocytes	4,5 %

Réactions humorales des chiens vaccinés.

OBSERVATION. CHIEN A. — Chien âgé de 4 mois 1/2.

L'animal est rasé sur les deux flancs le 30 décembre 1910, et la vaccination est pratiquée selon les différents procédés suivants :

1° 20 scarifications sont faites au bistouri et la pulpe vaccinale est étalée avec une spatule ;

2° 4 groupes de scarifications sont faites au vaccinostyle par le procédé employé chez l'homme ;

3° Vaccination après grattage au papier de verre et étalement à la spatule d'une solution de vaccin.

4° Vaccination à la pipette, après rasage et irritation du tégument avec une solution à 1 %.

Le 6 janvier 1911. — 1° 18 traits de scarification sur 20 présentent sur leurs bords des papules bien marquées et distinctes les unes des autres. Les lèvres des scarifications sont infiltrées, formant un bourrelet sur lequel apparaissent les papules.

2° Les scarifications présentent pour chaque groupe une petite pustule vaccinale, sauf le 4° groupe qui n'offre aucune lésion.

3° La partie vaccinée après grattage au papier de verre, présente deux pustules seulement.

4° La partie vaccinée à la pipette donne 9 éléments.

Les différentes réactions humorales ont été recherchées en série.

Réactions de fixation.

1° 10 janvier 1911, antigène, pulpe fraîche de génisse, réaction positive typique.

2° 14 janvier 1911, nouvelle recherche, même antigène, réaction aussi nettement positive.

3° 17 janvier, réaction positive.

4° 20 — —

5° 23 — —

6° 2 février, —

7° 9 — Les tubes présentent un début d'hémolyse.

8° 15 — Même aspect plus accentué.

9° 2 et 16 mars, la réaction est complètement négative.

Recherches du pouvoir virulicide du sérum.

Le pouvoir virulicide a été recherché selon la technique déjà indiquée.

1° 11 janvier 1911. Le sérum est essayé sur une zone du lapin (Y) mesurant 4,5 × 13 cent.

Le 17 janvier, le sérum a complètement tué le vaccin; on note deux pustules sur toute la surface de vaccination. Le témoin est confluent.

2° 20 janvier. Nouvel essai sur le lapin (54). Même résultat.

3° 11 février. Essai sur une zone de $4\frac{1}{2} \times 9$ cent. du lapin (57)

Le 18 février on note 11 papules sur la surface vaccinée, le témoin est confluent.

Etude du sang.

1° 30 décembre 1910 (*jour de la vaccination*).

Polynucléaires	64,6
Grands mononucléaires.	27
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	8,3

2° 5 janvier 1911 :

Polynucléaires	70,5
Grands mononucléaires.....	23,2
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	6,5
Eosinophile.....	0,7

3° 12 janvier :

Polynucléaires	70,3
Grands mononucléaires.....	26,3
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	3,2

4° 17 janvier :

Polynucléaires	71,5
Grands mononucléaires.....	20
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	8,5

5° 26 janvier :

Polynucléaires	78,7
Grands mononucléaires.....	18
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	3,3

6° 15 mars :

Polynucléaires	68
Grands mononucléaires.....	24
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	8

OBSERVATION. CHIEN B. — Chien âgé de 4 mois.

Le 14 janvier 1911. Les deux flancs sont rasés soigneusement.

A droite, on pratique 9 scarifications par la technique employée

pour vacciner les génisses, et on étale du vaccin glycérimé à la spatule.

A gauche, on pratique trois groupes de scarifications multiples.

Le 20 janvier, on remarque l'apparition de pustules vaccinales sur les traits de scarification, quelques-uns sont serts par un bourrelet très marqué ; les groupes de scarifications présentent également quelques lésions.

Réactions de fixation.

Elles sont faites en série.

1° Avant toute vaccination, le 14 janvier : Réaction négative.

2° 17 janvier : la réaction est encore négative.

3° 20 — : la réaction apparaît, il y a déviation du complément dans le 3° tube.

4° 25 janvier : réaction positive, totale et typique.

5° 2 février : la déviation n'est plus absolument totale, il y a légère trace d'hémolyse aux tubes 1 et 2.

6° 9 février : déviation incomplète.

7° 15 — : les tubes présentent une hémolyse presque complète.

A ce moment, l'animal qui avait eu déjà au mois de novembre 1910, un début de la maladie des jeunes chiens, est repris de cette affection ; son corps est couvert de lésions ; on pratique alors de nouvelles réactions de fixation, elles sont trouvées positives le 2 et le 18 mars.

Il est particulièrement intéressant de noter cette réapparition de la réaction chez un animal nouvellement atteint de la maladie des chiens ; on sait, en effet, que cette affection est considérée généralement comme étant due à un virus filtrant ; peut-être serions-nous en présence d'un nouveau fait comparable aux co-fixations décrites dans les mycoses.

On sait aussi que certains vétérinaires inoculent du vaccin Jennerien aux chiens, pour les préserver de la « maladie ».

On a été obligé de sacrifier l'animal.

Pouvoir virulicide

1° Le sérum du chien B, avant toute vaccination, a été essayé au point de vue d'un pouvoir virulicide préexistant et spontané.

L'essai a été fait sur une zone de 10×5 du lapin (52), le 14 janvier 1911. Le 20, on note une éruption confluyente : donc le sérum normal de ce chien ne jouit d'aucune puissance virulicide ;

2° 20 janvier, l'essai est fait sur une zone du lapin (34) ; le 25, on note une fort belle éruption moins confluyente cependant que sur la zone témoin (noter qu'à cette date la déviation complémentaire apparaissait) ;

3° 27 janvier, l'essai est fait sur le lapin (55) ; on compte le 2 février, 40 éléments sur 32 c², il y a confluent sur la zone témoin ;

4° 10 février, nouvelle recherche sur le lapin (37), zone de $4,5 \times 9$; le 16 février, on compte quelques papules mal venues et vite desséchées, la zone témoin est confluyente.

Etude du sang

1° 14 janvier (*jour de la vaccination*) :

Polynucléaires	75,7
Grands mononucléaires.....	20,6
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	3,4

2° 17 janvier :

Polynucléaires	78
Grands mononucléaires	16,5
Moyens mononucléaires et lymphocytes...	5,5

23° 3 janvier :

Polynucléaires	81,3
Grands mononucléaires.....	16,6
Moyens mononucléaires et lymphocytes ..	2

4° 27 janvier :

Polynucléaires	80,6
Grands mononucléaires.....	16
Moyens mononucléaires et lymphocytes...	3,2

OBSERVATION. CHIEN C. — Pour juger de l'influence de la maladie des jeunes chiens sur la réaction de fixation vaccinale, nous avons pris un jeune animal en pleine maladie, avec lésions cutanées.

Pratiquant la réaction de Bordet avec de la pulpe fraîche de génisse comme antigène, nous avons obtenu une déviation presque totale du complément dans le troisième tube. Cette réaction, que nous ne voulons pas, par rigueur du terme, nommer positive, a enlevé cependant toute valeur dans notre esprit aux réactions de fixation pratiquées avec l'antigène vaccinal, chez un animal en puissance de la maladie des jeunes chiens. Cette expérience confirme l'hypothèse des co-fixations.

IV. OBSERVATION. CHIEN D. — Chien de 5 mois.

Le 24 mai 1911, on pratique :

Côté droit 8 traits de scarifications avec la pointe d'un scalpel, on y dépose de la pulpe fraîche de génisse ; *côté gauche*, on pratique également 5 traits de scarification, sur lesquels on dépose du vaccin glycérimé.

Le 30 mai, on observe sur la plupart des traits de scarification un bourrelet avec quelques papules vaccinales très nettes.

Réactions de fixation

- 1° Pratiquée avant l'inoculation : négative ;
- 2° 30 mai, encore négative ;
- 3° 7 juin, la réaction est positive ;
- 4° 14, la réaction est positive ;
- 5° 3 juillet, elle est négative.

Pouvoir virulicide

1° Essayé le 31 mai sur le lapin (76), ce dernier meurt avant qu'on puisse lire les résultats ;

2° Essayé à nouveau le 7 juin, sur le lapin (77), on compte sept jours après, sur une zone de 5×9 , une éruption vaccinale de 8 éléments seulement ; le témoin est confluent ;

3° Le 4 juillet, une nouvelle recherche est faite sur le lapin (77 bis), A ce moment, le sérum tue complètement le vaccin, pas un seul élément sur la zone d'épreuve.

Réactions humorales des lapins vaccinés sur le tégument

Au cours de nos expériences dans les différentes voies d'inoculation vaccinale, nous avons eu besoin, pour l'essai de nos sérums, et pour avoir des témoins, de pratiquer des vaccinations cutanées chez le lapin. Nous avons étudié un certain nombre de ces animaux ; nous présenterons leurs observations, sans que les numéros d'ordre se suivent, ces bêtes appartenant à différents groupements d'expériences.

Disons immédiatement que la vaccine cutanée du lapin ne semble pas déterminer, aussi manifestement que chez le singe et le chien, les réactions que nous y avons observées.

LAPIN N° 2. — Vacciné le 22 juillet 1910.

Réaction de fixation le 1^{er} août : négative.

LAPIN N° 6. — Vacciné le 7 août 1910.

Réaction le 12 août : réaction positive.

LAPIN N° 13. — Vacciné sur le dos le 5 novembre 1910.

Réaction le 11 novembre : réaction négative.

LAPIN N° C. — Vacciné le 8 novembre 1910.

Réaction le 26 novembre : réaction négative.

Essai du pouvoir virulicide de son sérum sur le lapin K, le sérum tue complètement le vaccin ; l'animal a été sacrifié pour l'étude des anticorps dans les viscères (V. page 143).

LAPIN Y. — Vaccin cutané 11 janvier 1911.

LAPIN Z. — — 14 —

Réaction de fixation 25 janvier : négative.

LAPINS 51, 52, 53. — Vaccinés sur le dos, 14 janvier 1911. Réaction de fixation le 1^{er} février : négative.

LAPIN 40 *bis*. — Vaccin cutané du 6 février. Réaction de fixation le 15 du même mois : R. positive.

LAPIN X. — Vaccine cutanée du 5 janvier 1911. Réaction de fixation positive 10 jours après. Le 23 la réaction disparaît.

LAPIN 54. — L'animal est vacciné le 20 janvier 1911. La réaction est pratiquée avec de la pulpe fraîche comme antigène. Elle est positive le 3 février 1911. Une nouvelle réaction est faite le 23, pratiquée dans les mêmes conditions, on ne note de déviation que dans un tube.

LAPIN 57. — Vaccine cutanée du 11 février. Réaction le 23, positive. Le 5 mars, négative.

LAPIN 59. — Vaccine du 2 mars ; le 10 mars réaction négative.

18 mars : Réaction positive.

25 — : —

6 avril : —

26 — : Réaction négative.

3 mai : —

LAPIN 60. — Vaccin cutané du 10 mars.

18 mars : Réaction douteuse ?

6 avril : — positive typique.

23 — : — négative.

LAPIN 61. — Vaccine cutanée du 18 mars.

25 mars : Réaction négative.

30 — : — positive.

3 avril : — —

15 — : — négative.

LAPIN 68. — Vaccine cutanée du 9 mai 1911. Eruption confluent.

17 mai : Réaction négative.

24 — — positive.

31 — déviation dans un tube, hémolyse dans les deux autres.

Ce lapin n'a pu être suivi plus longtemps.

LAPIN 72 *bis*. — Vaccin du 7 juin 1911.

Réaction de fixation : 1^{er} juillet, positive.

LAPIN 73 *bis*. — Vaccin cutané 15 juin.

Réaction de fixation : 3 juillet, positive.

LAPIN 77. — Vaccin du 7 juin.

Réaction de fixation : 3 juillet, positive.

Ces trois derniers lapins n'ont pu être suivis plus longtemps.

Etude du sang

L'étude du sang chez le lapin vacciné sur la peau ne nous a pas fourni grands renseignements. On note quelquefois une augmentation des moyens mononucléaires et des lymphocytes. Mais si l'on étudie en série le sang d'un lapin neuf, on observe de telles variations qu'il nous a semblé bien peu intéressant de faire des recherches sur le sang de semblables animaux. Toutefois, nous signalerons l'examen du sang du lapin n° 13 qui avait subi une vaccination cutanée. Nous avons retrouvé le même type hématologique chez d'autres lapins, nous ne rapporterons qu'un examen servant d'exemple.

Avant vaccination, 5 novembre 1910 :

Polynucléaires.....	34
Grands mononucléaires.....	20
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	42
Eosinophiles.....	2
Mastzellen.....	2

Après vaccination, 11 novembre :

Polynucléaires.....	35
Grands mononucléaires.....	45
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	48
Mastzellen.....	2

EN RÉSUMÉ : Chez tous les animaux que nous venons d'étudier, nous avons pu obtenir les mêmes types de réactions humorales que chez l'homme. Toujours la réaction de fixation s'est montrée avec son double caractère déjà signalé, précoce et transitoire.

A ce point de vue, les observations du singe N° 2, et des chiens B et D sont très manifestes.

Chez les lapins, la fixation complémentaire manque assez souvent, mais quand elle existe c'est également d'une façon passagère. Notons que chez cet animal elle semble apparaître un peu plus tard que chez le singe et le chien, mais elle disparaît, alors que s'installe définitivement le pouvoir antivirulent du sérum.

C'est là, en effet, le point essentiel que nous croyons avoir établi : il y a une dissociation très nette entre ces deux types de réaction (réaction de fixation et pouvoir virulicide) et c'est ce que nous chercherons à interpréter plus loin.

Les examens de sang que nous avons pratiqués ne nous ont donné aucun résultat précis.

Chez l'homme adulte vacciné, nous avons quelquefois observé une légère polynucléose avec un peu de leucocytose 8.000 et 10.000.. Bien souvent il n'y avait aucune modification hématologique.

On sait que Roger et Weil n'ont pas trouvé de modification sanguine au cours de la vaccine, sauf la légère

eucocytose semblable à celle que nous venons de signaler.

Enriquez et Sicard ont décrit une certaine polynucléose chez l'adulte, et quelquefois de la mononucléose chez l'enfant.

IV. — Réactions humorales dans la vaccine expérimentale non tégumentaire.

Jusqu'à présent, nous n'avons envisagé que les réactions humorales obtenues, quand, par une vaccination cutanée on a déterminé un acte épidermique, et que l'immunité acquise lui est secondaire.

Mais cet acte est-il nécessaire et quelles sont les réactions du sujet en puissance d'immunité vaccinale conférée par une inoculation non tégumentaire ?

Le rôle de l'épiderme, dans l'évolution de la vaccine, a toujours paru être de la première importance. On est allé même jusqu'à penser que le conflit entre l'agent infectieux inoculé et la cellule épithéliale réceptrice, était nécessaire pour qu'il y eût immunité. Nous rappellerons que c'est là encore la théorie soutenue par les auteurs qui maintiennent la conception histogène de l'immunité variolique et vaccinale.

Cependant, des recherches fort nombreuses semblent bien prouver qu'il est possible d'immuniser, sans provoquer une lésion sur la peau. Nous avons cité, au début de ce travail, les recherches de Chauveau, de Strauss, de Chambont et de Ménard.

En ce qui concerne particulièrement l'immunité

secondaire à des insertions hypodermiques, Bécclère, Chambon, Ménard, ont montré que des génisses traitées par des injections sous-cutanées acquièrent l'immunité vers le 8^e ou le 10^e jour, c'est-à-dire deux jours plus tard que les génisses inoculées par la voie épidermique.

Nobl (1), étudiant l'efficacité des injections sous-cutanées, établit leur pouvoir immunisant par la méthode des inoculations successives pratiquées du 6^e au 20^e jour après l'injection. Il montra que les inoculations d'épreuve du 6^e, 7^e et 9^e jours sont toujours suivies d'un résultat positif, c'est-à-dire du développement de pustules vaccinales typiques. Tandis qu'à partir du 10^e jour ces épreuves demeurent constamment négatives.

Il ne pense pas qu'il se produise pendant cette période de latence, une circulation du virus puisque, en scarifiant le tégument en plusieurs points, après inoculation sous-cutanée, il ne voit jamais apparaître de pustule.

L'auteur, après avoir pratiqué ces inoculations sous-cutanées chez un grand nombre d'enfants, conclut à la généralisation de leur emploi, insistant sur ce fait qu'une semblable méthode met à l'abri des infections secondaires et prévient l'auto-inoculation.

Kraus et Volk (2) ont montré que l'injection sous-cutanée de lymphé vaccinale diluée à 1/500 ou 1/1000 peut, chez le singe, déterminer l'immunité cutanée, et quelquefois même une certaine immunité de la cornée.

(1) NOBL. Beiträge zur Vaccin-Immunität. *Wiener klinische Wochenschrift*, 1906, p. 658.

(2) KRAUS et VOLK. Studien über Immunität gegen Variolavaccine. Experimentelle Begründung einer subkutanen Schutzimpfung mittels verdünnter Vaccine. *Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien.*, 1907, CXVI. Abteil, III, 306.

ce qui ne s'observe pas dans la vaccination faite sur la peau (voir plus haut).

Enfin, Krauss et Volk ont vu qu'un vaccin chauffé à 68° et qui serait inactif sur la peau, peut conférer l'état réfractaire par voie hypodermique.

Knoepfelmacher (1) essaya d'immuniser l'homme par des injections très diluées sous la peau. Il inocula dans le tissu cellulaire de l'abdomen une solution au 1/1000 et il obtint, dans quelques cas seulement, 6 sur 17, un état d'immunité. Il remarqua que le foyer de l'injection se comporte d'une façon tout à fait spéciale vis-à-vis de l'insertion du vaccin : chez les adultes, en possession de l'immunité, l'injection provoque rapidement une légère irritation locale disparaissant en quelques jours. Chez les enfants, pleinement réceptifs et qui ont été immunisés par cette méthode, il ne remarqua aucune manifestation au point d'insertion sous-cutanée dans les premiers jours. Mais dans le cours de la 2^e semaine, il observait au point d'injection une rougeur diffuse avec induration intéressant la peau et le tissu cellulaire. La rougeur disparaissait du 2^e au 5^e jour, l'infiltration persistait quelques semaines, sans jamais passer à la suppuration. Cette induration n'existait pas chez les enfants réceptifs à une inoculation secondaire. Knoepfelmacher estime donc qu'il y a une certaine connexion entre cette lésion et le développement de l'immunité. Il tend à la considérer comme le produit de réaction spécifique des tissus vis-à-vis du virus vaccinal.

(1) KNOEPFELMACHER Subcutane Vaccinjectionen am Menschen. *Wiener medizinische Wochenschrift*, 1906, n° 45, 2198-2203.

Prowazeck (1) inocule de la lymphe sous la peau des singes et observe une infiltration au point d'injection : il ne peut plus provoquer de réinoculation d'épreuve au bout de 10 jours. Il en conclut à l'immunité à point de départ sous-cutané, et pense que le vaccin peut évoluer sous la peau comme intra-épidermique.

En faveur de cette hypothèse, on peut invoquer les recherches de Brinckerhoff et Tyzzer (2) qui ont trouvé des corps de Guarneri dans les cellules conjonctives.

Entre les mains de différents expérimentateurs, les résultats des injections sous-cutanées ne furent pas toujours semblables. Janson prétend avoir pu vacciner par cette voie, mais pour juger du résultat positif et négatif, il ne pratique les inoculations de contrôle que jusqu'au 7^e jour, et on sait qu'il faut de 8 à 10 jours pour immuniser par cette voie.

Tedeschi n'obtient aucun résultat positif en poursuivant même ces expériences de contrôle jusqu'au 20^e jour. Il est probable que ces faits dissemblables sont dus à des différences dans les doses de lymphes injectées sous la peau. Dernièrement, MM. Kelsch, Camus et Tanon (3) faisant des expériences sur l'inoculation sous-cutanée de lapins et de génisses, obtinrent des résultats variés, tantôt immunisation totale, tantôt partielle, quelquefois à peine ébauchée. MM. Teissier et Duvoir ont pu enfin vacciner des lapins et des singes sans provoquer de lésion sur la peau.

(1) PROWAZECH. Untersuchungen über die Vaccin. Arbeit. aus dem kaiserliche Gesundheitsamte. Berlin, t. XXVI, f. 1, 1907, 54-58.

(2) BRINCKERHOFF et TYZZER. Studies upon experimental Variola and vaccinia in quadrumena. The Philippine Journal of science. Manila, 1906, 1, 239-347, 8 pl.

(3) KELSCH, CAMUS et TANON. Bulletin de l'Académie de médecine, 28 janv. 1908

Nous avons vu que les auteurs ont souvent signalé la présence de nodosités secondaires à l'inoculation hypodermique. Elles se voient surtout chez l'homme, la génisse et le cheval. Elles sont exceptionnelles chez le lapin. Leur nature a été extrêmement discutée dans le mécanisme de l'immunité.

Pour Bécclère et ses collaborateurs, il s'agirait d'une réaction phlegmasique due aux agents secondaires de la pulpe. Nobl en fait de véritables « boutons vaccinaux » spécifiques.

C'est là un point de haute importance générale puisqu'il faudrait admettre, s'il s'agit d'une véritable lésion de vaccine, l'évolution possible du virus ailleurs que dans l'épiderme. Cette conception ne peut être admise actuellement sans conteste. On sait que Chauveau n'a jamais pu provoquer la vaccination en prenant le suc contenu dans une nodosité survenue chez le cheval après une injection sous-cutanée. Enfin, il est bien difficile de prouver, lorsque cette tumeur existe, que l'épiderme n'y prend pas une certaine part : un dépôt vaccinal y ayant été fait fortuitement pendant l'inoculation.

De cet exposé, nous pouvons déduire qu'en dehors de l'acte épidermique il est possible de conférer l'immunité, *mais qu'il n'y a pas une preuve absolue que l'épiderme ne soit pas le seul point apte à l'évolution exclusive du virus vaccinal*. Nous avons insisté sur ces faits, la notion de la vaccination non tégumentaire étant aujourd'hui encore discutée.

Nos expériences viennent après celles de beaucoup confirmer cette notion, mais elles avaient un autre but. Si, l'immunité peut être conférée par des voies diverses,

quels renseignements fournit l'étude des réactions humo-
rales faites comparativement et en série dans chaque
mode de vaccination?

A. — Recherches expérimentales sur la vaccine sous-cutanée.

Nous avons étudié la vaccine sous-cutanée chez le
lapin en inoculant à cet animal dans le tissu cellulaire
des dilutions de lymphé, tantôt en une seule fois, tantôt
à doses répétées ; nous avons cherché à préciser le plus
possible le caractère des réactions humorales offertes par
l'animal. Nous rapporterons d'abord le protocole de nos
expériences, pour résumer à la fin du paragraphe nos
résultats.

1^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES

LAPINS N^{os} 9 ET 10. — Ces deux animaux reçoivent 9 injections
de vaccin sous la peau, du 11 juillet 1910 au 19 du même mois.
Chaque injection contient 1/2 centimètre cube d'une solution à
1/200. Elle est pratiquée dans le tissu cellulaire du flanc droit. Une
pointe de feu profonde est faite chaque fois à la place de la piqûre
de l'aiguille. On n'observe ni lésion locale, ni infiltration sous-
tégumentaire.

Le 21 juillet, du sang est recueilli par ponction du cœur chez les
deux animaux.

1° On pratique une réaction de fixation, elle est négative.

2° A la même date, on essaie le pouvoir virulicide du sérum de
ces lapins, l'épreuve est faite sur un lapin n^o 11. Le 29 juillet, on
note une éruption confluyente sur les zones vaccinées.

Il n'y avait donc encore aucune réaction appréciable par les pro-
cédés employés chez les lapins 9 et 10. Cinq nouvelles injections

de vaccin aux mêmes doses sont pratiquées les 23, 24, 26, 27 et 28 juillet 1911. Le 29 juillet, une réaction de fixation est à nouveau refaite dans les mêmes conditions, elle apparaît cette fois très nettement positive.

A la même date, on essaie le pouvoir virulicide des deux animaux en expérience sur le lapin n° 12. Le 6 août, on note 4 papules pour la zone d'épreuve du lapin n° 9, et 6 pour la zone du lapin n° 10. La zone témoin est confluyente.

La déviation complémentaire s'observe encore le 4 août, mais elle disparaît complètement le 12.

Revaccination.

Le 13 août, on revaccine chacun des lapins en même temps qu'un témoin 12 *bis*. La vaccination demeure négative en ce sens qu'il n'apparaît aucune pustule sur le dos de l'animal, mais 48 heures après la vaccination, alors que l'irritation causée par le traumatisme avait complètement disparu, nous avons observé une rougeur diffuse avec légère infiltration du tégument, et de place en place quelques petites papules à peine saillantes. En deux jours, tout avait disparu et aucune lésion n'évolue.

N'est-il pas possible d'assimiler ce fait, d'ailleurs d'autres fois observé, à une réaction précoce, de même nature que celle décrite par Pirquet? Nous n'avons malheureusement pas pratiqué la revaccination sur le museau, où le phénomène eût été plus net et plus facile à juger. Le témoin offrait une vaccination typique.

Etude du sang.

Elle a été faite pour le lapin n° 10,

Avant la vaccination :

Polynucléaires	58,5
Grands et moyens mononucléaires	33
Lymphocytes	2,5
Mastzellen	6

23 juillet (*après 5 injections*) :

Polynucléaires.....	55,5
Grands et moyens mononucléaires.....	37
Lymphocytes.....	3
Mastzellen.....	4,5

9 août (le sérum est antivirulent; il dévie l'alexine) :

Polynucléaires.....	50
Grands et moyens mononucléaires.....	44
Lymphocytes.....	3
Mastzellen.....	3

2^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Trois lapins 80 A, 81 A, 82 A (provenant du laboratoire de M. Bezançon, reçoivent les 19 et 22 mai 1944 dans le tissu cellulaire du flanc une injection contenant chaque fois 1 centimètre cube d'une solution de vaccin à 1/100. On n'observe aucune lésion cutanée visible.

ÉTUDE DU LAPIN 80 A

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : négative.

Le 29 mai, nouvelle recherche en présence de pulpe fraîche comme antigène : réaction positive typique.

12 juin, la réaction a disparu, hémolyse complète.

Pouvoir virulicide.

L'essai du sérum s'est fait le 29 mai sur une zone du lapin 83 ; 6 jours après, il n'y a pas une seule papule, le sérum a tué complètement le vaccin.

Revaccination.

Faite le 29 mai, témoin lapin 84.

Le 4 juin, aucune éruption de revaccination, le témoin est confluent.

ÉTUDE DU LAPIN 81 A

L'animal meurt le 29 mai au moment où on le ponctionne.

ÉTUDE DU LAPIN 82 A

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : réaction négative.

Le 29 mai, réaction partielle, il y a un gros retard à l'hémolyse et déviation au 3^e tube.

Pouvoir virulicide.

Le sérum est mélangé à du vaccin et l'essai est pratiqué sur une zone du lapin 83. Le sérum ne tue pas complètement le vaccin, on observe une vingtaine d'éléments 6 jours après.

Revaccination.

Pratiquée le 29 mai, témoin 84. Le 4 juin, on compte une trentaine de papules. Le témoin est confluent.

Etude du sang.

Avant l'inoculation :

Polynucléaires	54,7
Grands et moyens mononucléaires	27,3
Lymphocytes	18

29 mai (au moment de la revaccination) :

Polynucléaires	46,5
Grands et moyens mononucléaires	29
Lymphocytes ..	21
Mastzellen...	3

3^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Les lapins 96, 97, 98 et 99 sont divisés en deux lots :

1^{er} lot : 96, 97. — Ces lapins reçoivent une injection de 1 centi-

mètre cube de vaccin à 1/100 le 25 septembre 1911, dans le tissu cellulaire sous-cutané du flanc droit.

2^e lot : 98, 99. — Ces lapins reçoivent 5 injections sous-cutanées de 1 centimètre cube à 1/100, les 25, 26, 27, 28 et 29 septembre. Aucune lésion sous-cutanée.

ÉTUDE DE LAPIN 96

Réactions de fixation

3 octobre, réaction partielle, aucun tube n'est complètement hémolysé.

9 octobre, même aspect de la réaction.

Pouvoir virulicide

L'essai fait le 3 octobre est pratiqué sur une zone du lapin N° 100. Le 9 octobre, on compte 14 papules sur la zone.

Revaccination

Pratiquée le 3 octobre, le 9, on compte 15 éléments, le témoin 96 *bis* est confluent.

ÉTUDE DU LAPIN 97

Réactions de fixation

3 octobre, hémolyse incomplète.

9 — — —

Pouvoir virulicide

Essai le 3 octobre, sur une zone du lapin N° 100, le 9, on compte 15 papules.

Revaccination

Pratiquée le 9 octobre, on compte 10 éléments au sixième jour. Le témoin 97 *bis* présente une éruption confluyente.

ÉTUDE DU LAPIN 98

Réactions de fixation

3 octobre, réaction positive.

9 — — — encore positive.

20 — — —

25 — la réaction est pratiquée avec l'antigène vaccinal habituel (vaccin frais) et comparativement avec l'antigène variolique obtenu par le broyage des croûtes de variole mises dans de l'eau physiologique.

Antigène vaccinal : déviation complémentaire.

Antigène variolique : déviation dans le troisième tube.

3 novembre, nouvelle réaction *négative* avec les deux antigènes.

Pouvoir virulicide

Essai sur une zone du lapin 100, le 3 octobre. Le 9, on compte 5 papules. Le 6 octobre, on recherche ce même pouvoir du sérum privé de ses globulines, l'essai est fait sur le lapin 101, comparativement avec la même quantité de vaccin en dilution dans de l'eau physiologique : les deux éruptions sont superposables. La soustraction des globulines semble donc avoir une influence réelle sur le pouvoir virulicide du sérum.

Revaccination

Pratiquée le 3 octobre, le 9, aucun élément.

ÉTUDE DU LAPIN 99

Réactions de fixation

3 octobre, déviation au troisième tube, légère hémolyse aux premier et deuxième.

9 octobre, déviation totale.

20 — — — au troisième tube seulement.

25 — réaction négative.

Pouvoir virulicide

Essai sur une zone du lapin 100, le 3 octobre ; la zone de vaccination offre 11 papules. Une nouvelle étude de la substance antivirulente est faite le 12 octobre, sur le lapin 100 *bis* ; le 20, pas une seule lésion.

Revaccination

Le 9 octobre, le 15, on compte seulement 3 papules.

EN RÉSUMÉ. — 8 lapins ont été étudiés et suivis après injections hypodermiques de vaccin :

1° A doses répétées et fractionnées ;

2° A doses faibles et non répétées.

L'immunité conférée a été absolue pour les animaux :

N^{os} 9, 10... (14 injections de $1/2$ c³ à $1/200$).

98, 99... (5 — — 1 c³ à $1/100$).

80 A.... (2 — — —).

L'immunité n'était pas complète pour les animaux :

N^{os} 82 A..... (2 injections de 1 c³ à $1/100$).

96, 97..... (1 — — —).

a) Chaque fois que l'animal est complètement immunisé, nous observons nettement la substance antivirulente dans le sérum.

b) Quant à la réaction de fixation, elle apparaît toujours très fortement positive quand l'animal a ou aura un sérum très virulicide.

c) Cette réaction n'est que partielle, c'est-à-dire déviation dans un seul tube, lorsque l'animal réagit encore, faiblement il est vrai, à une vaccination d'épreuve ultérieure.

d) La déviation complémentaire apparaît rapidement, elle peut même précéder le pouvoir antivirulent, mais elle disparaît toujours en une quinzaine de jour.

e) Deux animaux préparés exactement de même façon sont, l'un totalement immunisé, l'autre partiellement. Le premier offre une réaction de fixation extrêmement nette ; le deuxième une réaction partielle. Nous aurons à tirer argument de cette remarque dans la discussion ultérieure de la valeur de la déviation complémentaire.

f) Remarquons enfin, qu'un animal donnant une réaction de déviation vis-à-vis de la lymphe vaccinale comme antigène, peut la fournir également vis-à-vis d'une lymphe variolique.

g) Notons que si les lapins 96 et 97 n'ont pas acquis un état réfractaire complet, cela n'a rien de surprenant, puisque nous avons employé la dose très faible de 1 centimètre cube à 1/100, alors que M. Kelsch (1), dans ses recherches sur la vaccine sous-cutanée, n'obtenait avec 1 1/2 centimètre cube d'une solution à 1/20, que les résultats suivants sur 5 lapins : 1 totalement immunisé ; 2 partiellement ; 2 légèrement.

h) Il semble que la répétition des doses joue un rôle plus important que la quantité de vaccin et, qu'à dose sensiblement égale, l'immunité est plus facilement obtenue par la méthode des inoculations fractionnées que par l'inoculation unique.

(1) L'opinion de Kelsch que le tissu collagène est un terrain peu propice sinon réfractaire au développement du virus vaccinal, mais qu'il fournit à ce dernier, grâce aux lymphatiques, une porte d'entrée favorable, nous paraît fondée.

✕ B). — **Recherches expérimentales sur la vaccine endoveineuse.**

Suivant une méthode toujours analogue, nous avons étudié les réactions humorales de lapins inoculés par voie endoveineuse.

1^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Le lapin n° 1 reçoit tous les jours, du 11 au 19 juillet 1910, une injection endoveineuse de vaccin, 1/2 c³ d'une solution de 1/200. L'injection est faite dans la veine de l'oreille, en ayant soin de faire une pointe de feu à la place de la piqûre. Jamais nous n'avons observé la moindre lésion cutanée.

Le 21 juillet, on fait une prise de sang dans le cœur de l'animal.

Employant comme antigène du vaccin glycérimé, on obtient une déviation typique dans un tube. A la même date, le sérum du lapin est étudié au point de vue de son pouvoir virulicide, l'essai est fait sur le lapin n° 2. Le 29 juillet, la zone de vaccination présente trois papules sur une surface de 5 × 8. La zone témoin est confluyente.

La réaction de fixation a été répétée à plusieurs reprises.

Le 24 juillet, déviation complète dans les trois tubes.

Le 29 juillet, la réaction est encore nettement positive.

Le 12 août, la réaction disparaît, on ne constate plus qu'une hémolyse incomplète au tube contenant la plus forte quantité d'antigène.

Revaccination.

Le 13 août, l'animal est vacciné sur le dos, afin d'étudier l'évolution d'une 2^e vaccination chez un animal primitivement inoculé par voie endoveineuse.

Le 15 août 1910, on observe une rougeur accusée sur les traits de grattage, cette rougeur s'accompagne d'un léger boursoufflement le lendemain, elle s'étend le 17 et disparaît le 18. Il n'y a

aucune papule sur la surface de revaccination, tout s'étant borné à un érythème durant 48 heures. Le lapin témoin n° 3, offrait une éruption superbe.

Etude du sang.

Avant la vaccination :

Polynucléaires.....	52
Grands mononucléaires.....	10
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	37
Mastzellen.....	1

24 juillet :

Polynucléaires	35
Grands mononucléaires.....	12
Moyens mononucléaires et lymphocytes ...	50
Mastzellen.....	3

22 juillet :

Polynucléaires.....	35
Grands mononucléaires.....	15
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	49
Mastzellen..	1

11 août :

Polynucléaires.....	55
Grands mononucléaires.....	10
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	34
Mastzellen.....	1

2^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Vaccination par doses très faibles et répétées. — Vaccin chauffé et atténué.

Les lapins 63, 64, 65 et 66 sont divisés en deux lots. Le premier lot (63, 64) reçoit à huit reprises un demi-centimètre cube d'une solution de vaccin à 1/300. Les injections sont faites dans la veine marginale de l'oreille, une pointe de feu est pratiquée sur le lieu de la piqure. Elles ont lieu les 15, 18, 19, 20, 21, 22, 23 et 24 avril 1911.

Le deuxième lot reçoit aux mêmes dates, les mêmes quantités de vaccin, mais précédemment chauffé à 55°, demi-heure au bain-marie (cette expérience destinée à être une expérience de contrôle devait nous montrer les réactions humorales d'un animal ayant reçu du vaccin tué ; disons immédiatement qu'à cette température le vaccin ne fut pas détruit).

Le lapin 64 est mort spontanément, le 19 avril 1911.

ÉTUDE DU LAPIN 63

Réactions de fixation

Avant toute vaccination, négative.

Le 26 avril, gros retard à l'hémolyse.

On refait alors six nouvelles injections intraveineuses dans les mêmes conditions et les mêmes quantités que les premières.

Le 8 mai, nouvelle réaction de fixation positive.

Le 18 mai, nouvelle réaction, encore totalement positive.

Le 31 mai, la réaction disparaît, on constate cependant une très légère déviation au 3^e tube.

Pouvoir virulicide

26 avril. L'essai d'épreuve est fait sur le lapin 67, mais l'animal meurt le 29 avril, avant qu'on puisse lire les résultats, des papules vaccinales commencent cependant à apparaître.

Le 10 mai, nouvel essai sur le lapin 69, on ne note aucune éruption, le sérum a complètement tué le vaccin.

Revaccination

Pratiquée le 9 mai, un lapin témoin est fait dans les mêmes conditions. Le 17 mai, on ne note aucun élément vaccinal et le témoin est confluent.

ÉTUDE DU LAPIN 65

Inoculé avec du vaccin chauffé à 55°.

Réactions de fixation

Avant toute vaccination, négative.

26 avril, encore négative.

On refait six nouvelles injections endoveineuses dans les mêmes conditions que les premières, et avec un vaccin chauffé.

8 mai, déviation au 3^e tube, retard à l'hémolyse aux autres.

17 mai, réaction positive.

31 mai, réaction négative.

Pouvoir virulicide

1^o Essayé d'abord le 26 avril, sur le lapin 67, l'animal meurt avant que les résultats apparaissent. On voyait quelques éléments.

2^o Nouvel essai le 10 mai, sur le lapin 69, on note le 17 mai 10 papules. La zone témoin est confluyente.

Revaccination

Pratiquée le 10 mai, témoin lapin 68 : il n'y aucune éruption, le témoin est confluent.

ETUDE DU LAPIN 66

Inoculé avec du vaccin chauffé à 55°.

Réactions de fixation

Avant l'inoculation : réaction négative, 26 avril, réaction négative

On refait 6 injections du vaccin chauffé à 55°.

8 mai, déviation complète du 3^e tube, hémolyse aux deux autres.

17 mai, réaction positive.

31 mai, la réaction a disparu hémolyse totale.

Pouvoir virulicide

Recherché d'abord le 26 avril sur le lapin 67 : il meurt avant que les résultats soient lisibles nettement, mais des papules apparaissent déjà sur la zone vaccinée.

Nouvelle recherche le 10 mai sur le lapin 69 ; le 17 mai, on compte 10 papules.

Revaccination

Faite le 10 mai, témoin lapin 68 : aucune éruption sur l'animal étudié, le témoin est confluent.

Notes à propos de cette expérience

Cette expérience montre :

1° A 55° un vaccin chauffé n'est pas tué, et l'on peut encore vacciner un animal.

2° Cependant ce vaccin chauffé paraît avoir été atténué au moins en partie :

La réaction de fixation très nette pour le lapin 63 le 8 mai, est incomplètement positive à la même date pour les lapins 65 et 66.

Le pouvoir virulicide n'est pas aussi considérable chez ces différentes bêtes, alors que le sérum de 63 tue totalement le vaccin, le sérum des deux autres lapins 65 et 66 a un pouvoir très accusé mais inférieur, puisqu'on compte 10 éléments sur la zone vaccinée.

3° SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Vaccination par une seule injection de vaccin dans les veines

ETUDE DU LAPIN 74

Cet animal reçoit le 26 mai 1911, dans la veine marginale de l'oreille une injection de 1 c³ de solution vaccinale à 1/100.

Réactions de fixation

31 mai, réaction négative.

7 juin, —

Pouvoir virulicide

Le 31 mai, essai sur le lapin 76, l'animal meurt avant le résultat.

Le 7 juin, essai sur le lapin 77, on note le 14, 13 éléments.

Revaccination

Pratiquée le 8 juin, le 14 éruption moyenne de papules aplaties.

Les lapins 78, 79 et 80 reçoivent le 16 juin 1911 une injection intra-veineuse de 2 c³ d'une solution vaccinale à 1/100. On fait la cautérisation de la piqûre, on ne remarque aucune éruption au point de l'inoculation.

ETUDE DU LAPIN 78

Réactions de fixation

Avant l'inoculation : réaction négative.

Le 26 juin (10^e jour de la vaccination) : réaction positive.

Le 4 juillet : la réaction disparaît, mais l'hémolyse n'est pas encore absolument totale dans le 3^e tube.

Pouvoir virulicide

Ce pouvoir a été recherché le 26 juin sur le lapin 78 bis 6 jours après il n'y a qu'une légère différence avec la zone témoin.

L'essai est refait le 4 juillet sur le lapin 89, zone de 4 × 10. Le 10 juillet on ne note aucun élément vaccinal, le sérum tue complètement le vaccin. Le témoin est confluent.

Revaccination

L'animal est revacciné le 4 juillet. Le 10, on note 4 papules seulement sur le dos du lapin.

ETUDE DU LAPIN 79

L'animal a reçu une injection de 2 c³ à 4/100 le 16 juin.

Réactions de fixation

Avant toute inoculation : hémolyse.

Le 26 juin, réaction positive typique.

Le 4 juillet, la réaction disparaît, mais il y a encore déviation partielle au 3^e tube.

Pouvoir virulicide

L'essai est fait le 4 juillet sur une zone du lapin 89. Le 10 juillet, on ne constate pas un seul élément, le sérum a totalement tué le vaccin.

Revaccination

N'est pas pratiquée, l'animal servant à la recherche des anticorps dans les organes (Voir plus loin).

ETUDE DU LAPIN 80

Inoculation endo-veineuse du 16 juin 1944.

Réactions de fixation

Avant l'inoculation, négative.

Le 26 juin, réaction positive typique.

Le 4 juillet, —

Le 15 — la réaction est négative.

Pouvoir virulicide.

Une première recherche est faite le 26 juin, sur une zone du lapin 78 *bis*, on observe 6 jours après 15 éléments sur 40 centimètres carrés. Confluence du témoin.

Nouvel essai le 4 juillet sur le lapin 89. Le 10 juillet, il n'y a

pas un seul élément sur la zone vaccinée. la zone témoin est confluyente, le sérum a donc tué totalement le vaccin.

Revaccination.

Faite le 15 juillet, le 22 pas un seul élément.

A plusieurs reprises nous avons cherché à préciser, si les éléments organiques introduits dans la circulation en même temps que le vaccin inoculé dans les veines étaient à eux seuls suffisants pour déterminer des réactions humorales, et spécialement la réaction de fixation.

Ne voulant pas aborder ici une discussion reportée au chapitre général d'interprétation, nous transcrivons seulement nos expériences.

Elles ont essentiellement consisté à détruire le vaccin contenu dans une dilution de lymphé par le chauffage. Il est évident que par ce procédé nous avons aussi modifié l'état physico-chimique des produits injectés, et par cela même, nos recherches sont peut-être justiciables de critiques fondées. Néanmoins, elles nous semblent de quelque intérêt.

1^{re} EXPÉRIENCE DE CONTRÔLE

Le 25 mai 1911, un lapin n° 75 est inoculé dans la veine marginale de l'oreille avec 1 centimètre cube de lapin dilué au 1/100, et préalablement porté à l'ébullition pendant une 1/2 heure.

Réactions de fixation.

Le 31 mai : Réaction négative.

Le 7 juin : — —

Pouvoir virulicide.

Essai le 31 mai sur une zone du lapin 76, le lapin meurt avant le début de l'éruption.

Recherché à nouveau sur le lapin 77, le 7 juin, on note le 14 une confluence de toute la zone vaccinée.

Revaccination.

Pratiquée le 8 juin : éruption confluyente.

2^e EXPÉRIENCE DE CONTROLE

Nous avons inoculé parallèlement du vaccin chauffé et non chauffé aux lapins n^{os} 85, 86, 87 et 88. La même solution de vaccin a été divisée en deux parts, l'une a servi à l'injection directe, l'autre a été portée à l'autoclave pendant 20 minutes.

Chacun de ces animaux a reçu 3 injections de 1 centimètre cube à 1/100, les 16, 19, 21, 23, 24 juin 1911.

ÉTUDE DU LAPIN 85

L'animal a reçu aux dates précédentes, 3 injections de vaccin *non chauffé*.

Réactions de fixation.

Avant toute inoculation : Réaction négative.

Le 27 juin, déviation totale.

Pouvoir virulicide.

L'essai est fait le 27 juin, sur une zone du lapin 87 *bis*, le 3 juillet il n'y a pas une seule papule sur la zone vaccinée, confluence sur la région témoin.

Revaccination.

Pratiquée le 27 juin également, témoin lapin 85 *bis*.

Le 4 juillet, aucun élément sur le lapin 85, confluence sur le témoin 85 *bis*.

ÉTUDE DU LAPIN 86

L'animal a été préparé dans les mêmes conditions que le précédent, avec un vaccin *non chauffé*.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : Réaction négative.

Le 27 juin, réaction positive.

Le 3 juillet, réaction encore positive.

Pouvoir virulicide.

L'essai est fait le 4 juillet sur une zone du lapin 89. Le 10, on ne note aucune lésion vaccinale. Le sérum a donc tué totalement le vaccin.

Revaccination.

N'a pas été pratiquée, l'animal ayant servi pour la recherche des anticorps dans le foie et la rate (Voir plus loin).

ÉTUDE DU LAPIN 87

Cet animal a reçu, aux dates précédemment indiquées des injections de *vaccin autoclavé*.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : hémolyse.

Le 27 juin, hémolyse aux 1^{er} et 2^e tubes, mais déviation au 3^e.

Pouvoir virulicide.

L'essai du sérum est fait sur une des zones du lapin 87 *bis*, le 27 juin ; le 3 juillet, on note une éruption très nette, mais moins forte que sur la zone témoin.

Revaccination.

On revaccine le 27 juin en même temps qu'un lapin témoin 87 *ter*. Le 3 juillet, on note sur 87 une éruption moyenne, beaucoup moins confluyente que celle du témoin.

ÉTUDE DU LAPIN 88

L'animal meurt à la troisième injection, pas d'autopsie.

Cette expérience doit être commentée ; peut-être le passage à l'autoclave d'une solution de vaccin n'a pas suffi à détruire tout le vaccin ; en faveur de cette hypothèse on peut invoquer que le sérum du lapin 87 avait un pouvoir antivirulent léger, et que la revaccination de l'animal n'a donné qu'une éruption moyenne.

En admettant même qu'il n'en soit point ainsi, il n'y aurait vraiment rien de surprenant à ce que des doses répétées de substances albuminoïdes hétérogènes puissent dans certaines conditions déterminer une réaction de fixation partielle. Mais si l'on compare les résultats obtenus sur les lapins 85, 86 d'une part, et 87 de l'autre, on remarque que cette réaction n'est qu'ébauchée pour ce dernier, alors qu'elle est typique et totale pour les deux autres.

Le point le plus important était de nous assurer si une seule injection de vaccin autoclavé pouvait s'accompagner de réaction de fixation. C'est l'objet de l'expérience suivante.

3^e EXPÉRIENCE DE CONTROLE

ETUDE DES LAPINS 90 ET 91

Ces deux lapins reçoivent le 4 juillet 1911, chacun dans les veines une injection de 2 centimètres cubes d'une solution vaccinale à 1/100 préalablement autoclavée à 120 pendant une demi heure. Le 12 juillet on fait une prise de sang.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : réaction négative.

12 juillet

Pouvoir virulicide.

Le sérum de 90 et 91 est mélangé à du vaccin et essayé sur deux zones du lapin 92. Au sixième jour on note une égale confluence sur les zones d'épreuve et la zone témoin.

Revaccination.

Le lapin 90 est revacciné le 12 juillet ; le 18, on note une éruption confluyente comme sur le témoin.

Le lapin 91 n'est pas revacciné en même temps, une nouvelle réaction de fixation est faite le 21 juillet, elle est toujours négative. Revacciné alors, l'animal présente une éruption également confluyente.

Un lapin témoin 91 *bis*, fut étudié parallèlement. Il reçut, à la même date, 4 juillet, 2 centimètres cubes de la même solution *mais non chauffée*.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation, hémolyse.

12 juillet, réaction positive typique.

Pouvoir virulicide.

Essayé le 15 juillet, le sérum tue complètement le vaccin.

Revaccination.

Pratiquée le 15 juillet, aucune éruption ; témoin confluent.

EN RÉSUMÉ : 11 lapins ont été suivis en série dans l'étude des réactions humorales consécutives à la vaccination endoveineuse.

L'immunité conférée a été complète pour les lapins :

N ^{os} 1.....	(9 injections	1/2 c ³ à 1/200) ;
63, 65, 66.....	(14 — —	à 1/300) ;
78, 79, 80, 91 <i>bis</i> (1	—	2 c ³ à 1/100) ;
85, 86.....	(5 —	1 c ³ à 1/100).

L'immunité a été à peine ébauchée pour le

N^o 74..... (1 injection 1 c³ à 1/100).

a) A l'immunité complète et absolue répond une action antivirulente du sérum et une réaction de fixation très nette.

b) Cette réaction n'est que partielle ou négative quand le pouvoir virulicide est ou sera faible ou nul.

c) La déviation complémentaire se produit précocement (du 7^e au 10^e jour), et peut se montrer nettement antérieure au pouvoir antivirulent.

d) La réaction de fixation disparaît toujours en 2 semaines, alors que la propriété virulicide du sérum s'affirme de plus en plus.

e) Un vaccin détruit par le chauffage ne provoque aucune réaction de fixation, si on l'inocule aux doses de 1 cent. cube à 1/100 (lapin 75), ou 2 cent. cubes à 1/100 (lapins 90, 91) mais après 5 injections de 1 cent. cube à 1/100, on peut observer une déviation partielle et légère : cependant l'expérience que nous avons réalisée ne nous permet pas d'affirmer que l'animal n'avait pas été légèrement immunisé.

f) Des doses relativement très faibles immunisent par la voie endoveineuse, et une seule inoculation peut suffire pour conférer l'immunité.

Il faut remarquer enfin que les réactions humorales se présentent avec des caractères identiques dans leur

intensité, leur succession et leur durée, quel qu'ait été le mode d'inoculation du virus dans la circulation. Elles ne sont pas modifiées par les injections répétées et fractionnées.

C). — **Recherches expérimentales sur la vaccine digestive.**

L'étude de la vaccination par voie digestive a été très rarement abordée. Chauveau chercha par ce procédé à provoquer la maladie vaccinale. MM. Teissier et Duvoir ont apporté une contribution à cette étude en vaccinant et variolisant des lapins par cette voie. Casagrandi rapporte une expérience faite à ce sujet chez un chien. Il nous a été dit que certains médecins homéopathes américains ont proposé de pratiquer la vaccination des enfants par ingestion de vaccin, nous n'avons pu retrouver l'indication bibliographique.

Ici encore, nous ne nous sommes placés qu'au seul point de vue des réactions humorales présentées par l'animal ainsi inoculé. Il n'existe également aucun travail antérieur sur ce sujet.

Nous rapporterons nos différentes séries d'expériences.

4^{re} SERIE D'EXPÉRIENCES

27 octobre 1910. — Les lapins A, B, D, E sont divisés en deux lots, Les lapins A et B seront étudiés 12 jours après l'ingestion de vaccin et revaccinés sur la peau ; les deux autres seront étudiés 25 jours après cette ingestion et également revaccinés.

On introduit une sonde molle dans l'œsophage de chaque animal, et avec une seringue on pousse dans la sonde une suspension de

vaccin contenant 4 grammes de pulpe glycérinée dans 5 cent. cubes de sérum physiologique.

ÉTUDE DES LAPINS A ET B

Réactions de fixation

Avant la vaccination, aucune déviation.

Le 8 novembre 1910 :

Sérum de A : déviation totale du complément.

Sérum de B : déviation dans les tubes 2 et 3.

Le 15 février 1911, une réaction de fixation est pratiquée pour le lapin B, elle est négative.

Pouvoir virulicide

Les sérums A et B sont mélangés au vaccin et essayés sur des zones du lapin A *bis*, le 8 novembre, six jours après, il n'y a aucune différence entre les zones d'essai et la zone témoin ; il n'y a donc aucun pouvoir virulicide du sérum à cette date.

Revaccination

Le 8 novembre, c'est à-dire douze jours après l'ingestion, on revaccine chacun de ces animaux, sur un espace de 13×6 . Un lapin témoin C reçoit les mêmes quantités de vaccin sur un espace semblable.

Résultats : le 14 novembre, C présente 206 pustules sur l'espace vacciné. Le lapin A offre une éruption compacte où il est impossible de compter les éléments. Le lapin B offre une éruption superposable. Il semble même que la réaction vaccinale de A est supérieure à celle du témoin C.

C'est là un fait intéressant à signaler, car il n'est pas isolé, et à propos de recherches antérieures, Duvoir avait observé des états que l'on nommerait volontiers d'hypersensibilité vaccinale chez des sujets ayant reçu dans les douze jours qui précèdent la revaccination, une forte dose de vaccin dans les voies digestives.

Etude du sang

Avant l'inoculation :

Polynucléaires.....	Lapin A	30	Lapin B	37
Grands mononucléaires.....		30,5		40
Moyens mononucléaires et lymphocytes..		37		54
Mastzellen.....		2,5		2

Le 29 octobre :

Polynucléaires ..		30		32
Grands mononucléaires.....		43		45
Moyens mononucléaires et lymphocytes..		57		53

Le 3 novembre :

Polynucléaires.....		25		33
Grands mononucléaires		22		24,7
Moyens mononucléaires et lymphocytes..		54		38
Mastzellen.....		2		4,3

Le 14 novembre :

Polynucléaires..		43		47
Grands mononucléaires.....		20		34
Moyens mononucléaires et lymphocytes..		49		3
Mastzellen.....		47		3

Le lapin A meurt spontanément le 22 novembre, on trouve sur la muqueuse de l'estomac, au niveau du grand cul-de-sac une plaque infiltrée qui est prélevée pour l'examen histologique. On n'observe qu'un épaissement de la muqueuse sans structure à type de lésion vaccinale.

ÉTUDE DES LAPINS D ET E

Ces deux lapins préparés comme A et B ont été suivis comme les précédents.

Réactions de fixation

Avant toute vaccination, une réaction de contrôle affirme qu'il n'y a pas de déviation spontanée.

Le 8 novembre, la réaction est pratiquée au douzième jour de l'ingestion.

Lapin D. — Donne une réaction partiellement positive.

Lapin E. — Réaction positive typique.

Le 28 novembre, un mois après la vaccination digestive, on pratique à nouveau la réaction qui est maintenant négative pour les deux animaux.

Le 3 mai 1944, nouvelle réaction de fixation pour D : complètement négative.

Pouvoir virulicide

La recherche de ce pouvoir est faite avec le sérum prélevé le 28 novembre 1940. Les mélanges sont préparés et la vaccination d'épreuve faite sur le lapin L, sur son dos, on dessine trois zones de 5×9 pour l'essai des sérums D et E et le mélange témoin.

Le 7 décembre, on note les résultats suivants : le sérum a neutralisé presque totalement le vaccin, on compte 15 papules sur 45 centimètres carrés.

Le sérum E semble avoir un pouvoir virulicide un peu moins marqué, on compte 30 papules sur la zone de 45 centimètres carrés.

La zone vaccinée par le mélange témoin donne une éruption confluyente.

Revaccination

On ne peut revacciner sur le dos que D, le lapin E est mort le 28 novembre, au moment où on lui ponctionne le cœur. D est vacciné sur un espace de 12×9 , avec le même vaccin, on fait un animal témoin J. Le 4 décembre, D ne présente aucune pustule vaccinale, son sérum a totalement neutralisé le vaccin, à la même date, J offre une éruption de 235 pustules.

Autopsie du lapin E. — On ne trouve aucune lésion stomacale, un fragment de foie et la rate sont prélevés pour des expériences dont nous rapporterons le protocole plus loin

2^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Les lapins G et H reçoivent quotidiennement pendant dix jours, à partir du 26 novembre 1910, le contenu d'un tube de vaccin glycériné dilué dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique et injecté dans l'estomac par la sonde œsophagienne.

ÉTUDE DU LAPIN G

Le 7 décembre, on ponctionne le cœur de ce lapin.

Réactions de fixation

Avant l'inoculation : réaction négative.

Le 7 décembre : réaction négative.

Pouvoir virulicide.

La recherche en est faite le 7 décembre sur le lapin M qui est également vacciné avec le mélange témoin.

Le 14 décembre la zone vaccinée présente 33 papules sur 45 c² la zone témoin est confluyente.

Revaccination.

G est revacciné sur le dos le 7 décembre ; le 14 décembre on note une éruption de moyenne intensité constituée par des papules séchant rapidement, elle est notablement inférieure à celle du témoin.

Il semble donc bien que G au 12^e jour ne présente qu'une ébauche d'immunité.

ÉTUDE DU LAPIN H

Le 10 décembre, ponction du cœur.

Réactions de fixation

Le 11 décembre : réaction négative.

Le 24 — — —

Pouvoir virulicide.

Recherché le 24 décembre 1910, le sérum est mélangé au vaccin et essayé sur une zone de 6×10 dessinée sur le dos du lapin S. Au sixième jour, on note 15 papules mal venues et petites ; au contraire, la zone témoin est confluyente.

Revaccination.

Le lapin H est vacciné à la même date ; au sixième jour on observe une éruption de moyenne intensité formée par des éléments petits et mal venus ; le témoin Q présente une éruption confluyente.

3^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Le 10 décembre 1910, les lapins O et P reçoivent chacun 4 grammes de pulpe vaccinale glycinée introduite dans l'estomac par la sonde œsophagienne. Une prise de sang faite le même jour montre que le sérum de ces animaux ne dévie pas spontanément l'alexine.

ETUDE DU LAPIN O

Le 22 décembre le lapin O est ponctionné au douzième jour de sa vaccination digestive.

Réaction de fixation.

Pratiquée le 22 décembre elle est complètement positive ; en présence d'une lymphé vaccinale de génisse et de lapin.

Pouvoir virulicide.

À la même date (22 décembre), la recherche du pouvoir antivirulent est pratiquée sur le lapin T. La vaccination témoin est faite sur une zone du même animal. Le 29 décembre on note une très forte éruption comparable à celle apparaissant sur la zone témoin.

Revaccination.

Le lapin O est revacciné le 22 décembre sur un espace de 22×11 , la même quantité de la même solution vaccinale sert à vacciner sur une surface semblable le lapin témoin Q. Le 29 décembre O présente une éruption abondante constituée par des éléments de petite dimension et aplatis. Le témoin offre une éruption confluyente.

Le lapin O meurt le 1^{er} janvier 1944. A l'autopsie on trouve une plaque infiltrée dans la région pylorique, cette lésion est prélevée pour l'examen histologique. Nous n'avons observé que l'épaississement de la muqueuse sans aucun caractère spécial. D'autre part, à l'autopsie de lapins normaux, il nous a été possible de retrouver des formations du même type.

Le foie et la rate du lapin O ont été conservés pour la recherche des anticorps dans les organes (voir plus loin).

ETUDE DU LAPIN P

Réactions de fixation.

Le 24 décembre la réaction est faite en prenant comme antigène du vaccin de génisse et du vaccin de lapin, elle est positive comme pour le lapin O.

Le 6 janvier 1944, une nouvelle réaction est faite dans les mêmes conditions, elle est négative bien qu'il subsiste une très légère déviation dans le 3^e tube.

Pouvoir virulicide.

Le sérum a été prélevé le 5 janvier 1944. Le 11 janvier le pouvoir est recherché selon la technique habituelle sur une zone de 4×13 dessinée sur le dos du lapin Y, une zone témoin est également faite. Le 17 janvier on note une éruption discrète de 25 papules sur la zone de 52 cm^2 , la zone témoin est confluyente (Noter que le sérum a été conservé à la glacière du 5 au 11 janvier).

Revaccination.

Le lapin P est revacciné le 5 janvier sur un espace de $13 \times 8,5$, avec la même solution on fait sur un même espace un lapin témoin X.

Le 10 janvier P présente une légère éruption de quelques papules à peine ombiliquées et rapidement desséchées. Le témoin X donne une éruption confluyente à type classique.

Etude du sang.

Avant toute vaccination :

Polynucléaires.....	52
Grands mononucléaires.....	36
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	10
Mastzellen.....	2

Le 5 janvier :

Polynucléaires.....	45
Grands mononucléaires.....	33
Moyens mononucléaires et lymphocytes....	16
Mastzellen ...	6

Le 10 janvier (5^e jour de la revaccination cutanée :) :

Polynucléaires.....	57,3
Grands mononucléaires.....	22
Moyens mononucléaires et lymphocytes. .	17,6
Mastzellen	2
Eosinophile.....	0,6

Le lapin P meurt le 7 janvier. A l'autopsie aucune lésion.

4^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Deux jeunes lapins de 2 mois U et V sont vaccinés par la voie digestive le 30 décembre 1940, recevant chacun par la sonde 5 grammes de pulpe vaccinale.

Le 11 janvier 1941, on tente vainement une ponction du cœur

du lapin U ; risquant de le tuer, on se contente de le revacciner sur le dos en même temps qu'un témoin.

Le 17 janvier, l'éruption est très nette, malheureusement un noevus gêne la lecture de l'éruption : le témoin est confluent.

Le lapin V meurt spontanément le 22 janvier. On ne trouve aucune lésion à l'autopsie. U est sacrifié le 25 janvier, on n'observe rien d'anormal à l'estomac.

3^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Le 25 janvier 1911, les lapins 40 et 41 reçoivent chacun, par la sonde œsophagienne 5 centimètres cubes d'une émulsion de pulpe fraîche à 1/100.

ÉTUDE DU LAPIN 40

Réactions de fixation.

Le 30 janvier 1911, réaction de fixation positive aux 2^e et 3^e tubes, hémolyse au 1^{er}.

Le 6 février, réaction positive totale.

Le 15 février, déviation au 3^e tube seulement.

Le 2 mars, hémolyse partout.

Le 10 mars, . — —

Pouvoir virulicide.

Le sérum recueilli le 6 février est mélangé au vaccin et la vaccination d'épreuve est pratiquée sur une zone de 4×9 du lapin 36.

Au sixième jour de la vaccination on note une trentaine de papules sur 36 centimètres carrés, la zone témoin est confluent.

Revaccination.

Le 6 février, on revaccine le lapin 40 sur un espace de 10×6 , un lapin témoin 40 *bis* est fait dans les mêmes conditions. Le 11 février, on note 3 papules sur le dos de 40, 40 *bis* est confluent.

Le lapin 40 a été conservé longtemps.

Le 5 avril, on a tenté une nouvelle revaccination de l'animal, elle fut totalement négative.

Refaisant le 26 avril une réaction de fixation, elle demeure également négative.

Au mois de novembre 1911, on recherche le pouvoir antivirulent du sérum du lapin 40, il apparait encore d'une façon manifeste, et neutralise presque complètement le vaccin. La réaction de fixation est toujours négative.

Le 10 novembre 1911, ce lapin est revacciné, 48 heures après on note une rougeur diffuse sans aucun élément vaccinal, et en 48 autres heures tout a disparu, il n'évolue aucune lésion.

Étude du sang.

Avant la vaccination :

Polynucléaires	32
Grands mononucléaires.....	39
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	22,5
Eosinophile.....	0,5
Mastzellen.....	6

Le 6 février :

Polynucléaires	78
Grands mononucléaires.....	15
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	6
Eosinophile.	0,5
Mastzellen.....	0,5

ÉTUDE DU LAPIN 41

Réactions de fixation.

Le 30 janvier 1911, réaction positive dans les deux derniers tubes, hémolyse au 1^{er}.

Le 6 février, réaction positive totale dans les 3 tubes.

Le 23 février, réaction négative.

Le 10 mars, — —

Le 3 mai, — —

Pouvoir virulicide.

Le 6 février, le mélange avec le vaccin est pratiqué et l'épreuve faite sur le lapin 56. Au sixième jour, on note une forte éruption vaccinale, cependant moins confluyente que sur la zone témoin.

Le 23 février, une nouvelle recherche du pouvoir virulicide est faite sur une zone du lapin 58. Le 2 mars, on ne trouve aucune lésion vaccinale.

Revaccination.

Elle est pratiquée le 23 février sur un espace de 99 centimètres carrés, le témoin 44 *bis* est fait dans les mêmes conditions avec la même solution de vaccin.

Le 2 mars, on note à peine quelques papules isolées et mal venues sur le lapin 44, le témoin au contraire offre une éruption confluyente.

Le lapin 44 a été conservé de longs mois pour l'étude de son immunité. Le 10 novembre 1911, une ponction du cœur est pratiquée, on note que le sérum de l'animal a un pouvoir virulicide très accusé. La réaction de fixation est au contraire négative.

La revaccination à cette date du 11 novembre 1911, ne donne qu'une infiltration diffuse avec quelques papules n'aboutissant pas à la pustulation.

Étude du sang.

Avant la vaccination : 25 janvier 1911 :

Polynucléaires.....	36
Grands mononucléaires.....	35,5
Moyens mononucléaires et lymphocytes ..	27
Mastzellen.....	4,3

Douzième jour de la vaccination : 6 février 1911 :

Polynucléaires.....	48,5
Eosinophile.....	0,4
Grands mononucléaires.....	37,4
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	11
Mastzellen.....	2,3

Le 23 février 1911 :

Polynucléaires	74,6
Grands mononucléaires	17,3
Moyens mononucléaires et lymphocytes . .	7,2
Eosinophile	0,6

Ici encore nous avons cherché si l'introduction gastrique de lymphé préalablement chauffée pour détruire le virus vaccinal était susceptible de déterminer des réactions humérales, et spécialement la réaction de déviation.

Les lapins 93 et 94 reçoivent, le 13 juillet 1911, 5 centimètres cubes d'une émulsion de vaccin frais de génisse autoclavé 1/2 heure. Ces lapins ont été étudiés parallèlement.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : négative.

Pratiquée le 21 juillet : négative.

Pouvoir virulicide.

Recherché le 21 juillet sur le lapin 95, la zone vaccinée avec le mélange du vaccin et des sérums de 93 et 94 donne une éruption confluyente comme le mélange témoin.

Revaccination.

Pratiquée le 21 juillet, on note une éruption confluyente sur les deux animaux.

EN RÉSUMÉ : Dans ces diverses séries d'expériences nous avons étudié 14 animaux. Si l'on cherche à grouper les résultats obtenus, on remarque immédiatement qu'ils peuvent se ranger en deux catégories bien nettes et distinctes.

I) *Cas où l'introduction de lymphé vaccinale dans l'estomac n'a conféré aucune immunité, ou seulement une immunité à peine ébauchée :*

- A-B (Aucune immunité à la revaccination pratiquée 12 jours après l'ingestion d'une forte dose de vaccin en une seule fois).
- G (Immunité à peine ébauchée à la revaccination pratiquée 12 jours après l'ingestion de vaccin à doses fractionnées et quotidiennes).
- O-U (Aucune immunité à la revaccination pratiquée 12 jours après l'ingestion, en une fois, de lymphé vaccinale).

II) *Cas où l'introduction de lymphé vaccinale dans l'estomac, a conféré une immunité totale ou presque totale :*

- D-E (Immunité totale à la revaccination de D un mois après l'ingestion de vaccin à forte dose. E ne peut être vacciné, mais son sérum neutralise le vaccin).
- H (Immunité presque complète à la revaccination 25 jours après l'ingestion fractionnée de lymphé vaccinale).
- P (Immunité presque totale à la revaccination 25 jours après l'ingestion de vaccin en une fois et à forte dose).
- 41 (Immunité absolue 28 jours après l'ingestion de vaccin).

Seul le lapin 40 a été, dès le douzième jour, réfractaire à la revaccination cutanée, mais à ce moment son sérum n'était pas fortement neutralisant comme celui des animaux D et 41.

a) Dans chacune de ces deux catégories de faits les réactions humorales étudiées soit au 12^e, soit au 25^e jour sont bien différentes.

Au 12^e jour, nous avons constamment trouvé (sauf G et H) la réaction de fixation. A ce moment, le sérum n'est pas antivirulent, et la revaccination tégumentaire donne une éruption abondante.

Au 25^e jour, la réaction de fixation a toujours disparu, mais le sérum de l'animal devient alors neutralisant et l'immunité tégumentaire est acquise. Elle n'est donc obtenue que beaucoup plus lentement que par les autres modes de vaccination.

b) Le fait capital de ces expériences est donc la dissociation manifeste des renseignements fournis par la déviation complémentaire et le pouvoir antivirulent du sérum.

Cette réaction de fixation est toujours précoce, elle est aussi transitoire ; sa netteté est d'autant mieux marquée, semble-t-il, que l'animal sera ultérieurement mieux réfractaire ; en une quinzaine de jours ici encore la réaction de fixation disparaît.

L'action du sérum, au contraire, subsiste, et après plusieurs mois nous avons pu la mettre encore nettement en évidence : l'animal demeurerait immunisé alors que depuis longtemps la réaction de fixation n'existait plus.

c) Si on tente chez l'animal ainsi immunisé depuis longtemps, une nouvelle vaccination, on remarque une rougeur diffuse, précoce, transitoire, qu'il est, peut-être, légitime d'assimiler à une réaction d'allergie vaccinale.

Il en serait donc de même chez l'animal et chez

l'homme ; chez ce dernier, la réaction de Von Pirquet s'observe lorsque le sérum, demeurant antivirulent, n'est plus capable de dévier le complément.

Nous aurons à interpréter plus tard cette succession si caractéristique dans les différentes réactions humérales.

d) Un vaccin détruit par le chauffage et introduit dans l'estomac ne provoque aucun phénomène de déviation complémentaire.

e) Il y a peut-être lieu de se demander si après l'ingestion vaccinale, l'animal ne se trouve pas, pendant quelques jours, vis-à-vis d'une nouvelle vaccination, dans un état de sensibilité toute spéciale. Certains de nos lapins ont, en effet, présenté des revaccinations supérieures, dans leur intensité, à celle des animaux témoins.

MM. Teissier et Duvoir, au cours de recherches antérieures, avaient même remarqué que vers le 12^e jour le sérum d'un lapin vacciné par la voie digestive peut être, non seulement sans action neutralisante, mais au contraire, activant dans une certaine mesure.

D). — **Recherches expérimentales sur la vaccine péritonéale.**

En dehors des recherches de MM. Teissier et Duvoir, nous ne connaissons pas de travaux antérieurs faits sur l'introduction du vaccin dans la cavité péritonéale.

Ici encore, nous avons recherché les caractéristiques des réactions humérales dans ce mode de vaccination.

Nous avons vacciné des animaux, tantôt en plaçant dans l'abdomen des sacs de collodion contenant du vaccin, tantôt en introduisant ce dernier directement dans le péritoine.

4^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES

*Essai de vaccination par la méthode de sacs de collodion. —
Dose forte.*

Le 19 décembre 1910, les deux lapins N^{os} 30 et 31 sont laparotomisés et reçoivent dans l'abdomen un sac de collodion contenant dans 3 cent. cubes de sérum physiologique, la valeur de 3 petits tubes de vaccin glycérimé.

ETUDE DU LAPIN 30

Le 24 décembre (5 jours après la vaccination péritonéale), on fait une ponction du cœur.

Réaction de fixation.

Pratiquée en présence de pulpe fraîche comme antigène : Réaction positive.

Pouvoir virulicide.

Le 24 décembre 1910, le sérum du lapin 30 est mélangé au vaccin et essayé sur une zone de 5 × 10, sur le lapin témoin T. Le 29 décembre on compte 50 papules vaccinales sur les 50 centimètres carrés de la zone. La zone témoin offre une forte éruption vaccinale.

Revaccination.

La revaccination du lapin 30 est également pratiquée le 24 décembre, un espace de 8 × 11 est dessiné sur son dos, un témoin R est fait dans les mêmes conditions avec le même vaccin. Le 29 décembre les deux animaux présentent une éruption tout à fait superposable.

Etude du sang.

Avant l'inoculation péritonéale, 19 décembre :

Polynucléaires.....	60 %
Grands mononucléaires.....	20 %
Moyens mononucléaires et lymphocytes..	10 %
Mastzellen.....	10 %

Le 30 décembre, 5 jours après la revaccination cutanée :

Polynucléaires.....	30
Grands mononucléaires.....	14
Moyens mononucléaires et lymphocytes...	51
Mastzellen.....	5

Le lapin 30 meurt le 31 décembre. A l'autopsie, on trouve le sac de collodion placé en arrière de l'estomac, entouré de quelques adhérences épiploïques. Il n'y a pas d'exsudat péritonéal, le sac contient un liquide dans lequel on ne trouve pas d'élément cytologique mais des streptocoques et staphylocoques. *On s'assure par l'épreuve de l'eau que le sac n'était pas percé.*

On prélève le foie et la rate pour faire des extraits organiques dans le vide (voir plus loin).

ÉTUDE DU LAPIN 31

Préparé le même jour que le précédent, 19 décembre 1910. Ponction du cœur, le 14 janvier 1911.

Réactions de fixation.

Ces réactions furent pratiquées toujours simultanément avec du vaccin frais de génisse, et du vaccin frais de lapin comme antigène.

24 décembre 1910, réaction positive, typique.

14 janvier 1911, réaction positive, typique.

25 janvier, la réaction a presque disparu, il y a encore cependant déviation partielle au 3^e tube.

Pouvoir virulicide.

A été essayé à plusieurs reprises et à différents moment. Le 24 décembre (5^e jour), l'essai est fait sur une zone de 5×10 cent. du lapin T. On note le 29 décembre une éruption comparable à celle de la zone témoin : il y a confluence.

14 janvier 1911, nouvel essai du pouvoir antivirulent sur le lapin 51, zone de 40 cent. carrés : il y a confluence sur la zone témoin.

27 janvier 1911, un troisième essai est pratiqué sur une zone du lapin 55 ; le 2 février, on compte 10 papules, l'éruption de la zone témoin est confluyente.

Revaccination.

Elle est pratiquée le 14 janvier sur un espace de $13 \times 6,5$. Dans les mêmes conditions et avec la même solution, le témoin Z est vacciné.

Le 20 janvier, le lapin 31 ne présente aucune éruption, Z en offre une confluyente.

Le lapin 31 meurt spontanément le 1^{er} février. A l'autopsie, on trouve une péricardite hémorragique. Le sac est entre deux anses de l'intestin grêle, il y a peu d'adhérence et l'on s'assure, par l'épreuve de l'eau, que ce sac n'est pas percé.

On ne trouve aucune lésion au foie, à la rate et aux différents viscères.

2^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Essai de vaccination par voie péritonéale à l'aide de sac de collodion. — Emploi de doses faibles.

3 lapins n^{os} 32, 33, 34 sont vaccinés le 23 février 1911. Des sacs de collodion contenant $2 \text{ c}^3 \frac{1}{2}$ d'une émulsion de vaccin frais à 1/100 sont placés dans l'abdomen.

Au moment de la fermeture des sacs on remarque que le collet n'est pas absolument clos, et on est obligé de remettre du collodion. Il importe de noter l'épaisseur trop forte de nos sacs dans cette expérience.

Avant la vaccination, une ponction du cœur fut pratiquée à chaque animal, il n'existait aucune déviation complémentaire spontanée.

ÉTUDE DU LAPIN 32

L'animal est ponctionné le 4^{er} mars.

Réaction de fixation.

Faite le 2 mars, elle est négative.

Pouvoir virulicide..

Le sérum de l'animal mélangé au vaccin est essayé sur une zone de $9 \times 4,5$ du lapin 59, le 2 mars.

Le 8 mars, on note une éruption également confluyente sur la zone d'épreuve et la zone témoin.

Revaccination.

Pratiquée le 2 mars en même temps que sur le lapin témoin 32 bis. Le 8 mars, le lapin témoin est confluent, l'animal étudié présente une éruption presque aussi forte.

ETUDE DU LAPIN 33

L'animal est ponctionné le 4^{er} mars.

Réactions de fixation.

Faite le 2 mars, elle est négative.

Refait le 10 mars, elle l'est encore.

Pouvoir virulicide.

Essayé le 2 mars sur une zone de $9 \times 4,5$ du lapin 59 l'éruption d'épreuve est aussi forte que celle du témoin.

Essayé à nouveau le 10 mars sur une zone du lapin 60, on note le sixième jour sur 40 centimètres carrés une éruption de 42 papules. La zone témoin présente une éruption à peu près superposable.

Revaccination.

Faite le 10 mars, sur une surface de 10×9 un animal témoin 33 bis est fait dans les mêmes conditions.

Le 15 mars, le lapin 33 est aussi confluent que le témoin.

ETUDE DU LAPIN 34

La vaccination péritonéale date du 23 février.

Réactions de fixation.

Faite le 10 mars, la réaction est négative, il y a cependant une ébauche de déviation au troisième tube.

Refaite le 18, elle est totalement négative.

Pouvoir virulicide.

Le 10 mars, le sérum du lapin 34 est essayé sur une zone du lapin 60.

Le 15 mars, on compte 43 éléments sur 40 centimètres carrés, la zone témoin en offre 100.

Le 19 mars, nouvel essai fait sur le lapin 62, mais l'animal meurt le 23 avant même que la zone témoin soit en éruption.

Revaccination,

Pratiquée le 18 mars dans les mêmes conditions que l'animal témoin 34 bis.

Le 23, on note une forte éruption, mais formée d'éléments aplatis et mal venus: le témoin est au contraire couvert d'une éruption confluyente et bien formée.

3^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Essai de vaccination par voie péritonéale à l'aide de sacs de collodion. — Dose faible.

Les lapins 35, 36 et 37 reçoivent le 5 octobre 1914 par laparotomie, chacun un sac de collodion contenant 1 1/2 centimètre cube de solution de vaccin glycérimé à 1/100.

ETUDE DU LAPIN 35

Vaccination du 5 octobre.

Réaction de fixation.

Pratiquée le 13 octobre : réaction négative.

Pouvoir virulicide.

Essai sur une zone du lapin 35 *bis*, le 13 octobre.

Le 18 octobre, la zone d'épreuve et la zone témoin offrent une éruption superposable.

Revaccination.

Pratiquée le 13 octobre en même temps qu'un animal témoin : les deux animaux présentent à la date du 20 une éruption de moyenne intensité, mais tout à fait comparable.

ETUDE DU LAPIN 36

Inoculation du 5 octobre.

Réactions de fixation.

Le 13 octobre, déviation dans un tube seulement.

Le 20 octobre, réaction douteuse ? nous la portons négative sur le protocole de l'expérience.

Pouvoir virulicide.

Essai le 13 octobre sur une zone du lapin 35 *bis*, le 20, on compte 18 éléments.

Revaccination.

Faite le 26 octobre : le 26 on ne compte que quelques éléments. mais la zone témoin n'offre qu'une légère éruption, et l'on peut mettre en doute la virulence du vaccin employé dans cette expérience.

ETUDE DU LAPIN 37

Ce lapin a été vacciné le 5 octobre.

Réactions de fixation.

13 octobre, réaction négative mais l'hémolyse n'est cependant pas totale.

20 octobre, déviation encore incomplète, les tubes ne présentent qu'une trace d'hémolyse.

25 octobre, la réaction est refaite avec un antigène vaccinal et comparativement avec un antigène variolique obtenu par macération de croûtes :

Antigène vaccinal, déviation aux 2^e et 3^e tubes.

Antigène variolique, déviation au 3^e tube.

3 novembre, la réaction est refaite vis-à-vis de ces deux antigènes :

Antigène vaccinal : réaction négative.

Antigène variolique : déviation au 3^e tube.

10 novembre, la réaction est totalement négative pour les deux antigènes employés.

Pouvoir virulicide.

Essayé le 13 octobre sur le lapin 35 *bis*. 6 jours après autant d'éléments que sur la zone témoin.

Revaccination.

Pratiquée le 25 octobre, éruption très discrète, confluence sur le

lapin témoin. A cette date, une nouvelle recherche du pouvoir neutralisant est refaite, et la zone d'épreuve présente quelques papules disséminées, alors que la zone témoin offre une éruption de forte intensité.

4^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Recherches sur la vaccination par introduction directe de lymphe vaccinale dans le péritoine.

Le 17 mai 1911, les lapins 70, 71, 72 et 73 sont inoculés par la voie péritonéale, tous avec la même technique. On prépare une solution de vaccine au 1,100.

Le lapin, mis sur le dos, on lui enfonce dans le péritoine la gaine d'un trocart fin ; par cette gaine on introduit l'aiguille de la seringue et on pousse dans le péritoine 2 centimètres cubes de la solution vaccinale. On retire d'abord l'aiguille, ensuite l'enveloppe et on pratique une pointe de feu sur le tégument (Il a été impossible de distinguer la moindre lésion cutanée consécutive à l'inoculation).

Une réaction de fixation préalable, faite pour chaque animal, nous prouvait que le sérum n'avait aucune sensibilisatrice normale.

ÉTUDE DU LAPIN 70

Inoculation du 17 mai 1911.

Réaction de fixation.

Pratiquée au septième jour de la vaccination, 24 mai : Réaction négative.

(Le tube contenant le mélange du sérum et du vaccin ayant été cassé, l'épreuve du pouvoir virulicide n'a pu être faite).

Revaccination.

Pratiquée le 24 mai, en même temps que le témoin 70 bis, zone vaccinée 10 × 6. Le 29 mai, on note une éruption également confluyente sur les deux animaux.

ÉTUDE DU LAPIN 71

Inoculation du 17 mai 1911.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation, hémolyse.

Le 30 mai, hémolyse.

Pouvoir virulicide.

Le pouvoir virulicide est recherché le 30 mai, au treizième jour de la vaccination, sur le lapin 76. Le 2 juin, l'animal meurt avant que l'on puisse noter le résultat de l'expérience.

Revaccination.

Faite le 30 mai, en même temps que le témoin sur une surface de 10×9 .

Le 4 juin, on note sur le lapin 71, 30 papules, l'animal témoin présente une éruption confluyente.

Le lapin 71 meurt le 18 juin. A l'autopsie, on ne trouve aucune lésion sur le péritoine ou les viscères.

Étude du sang.

<i>Avant l'inoculation :</i>		<i>Le 30 mai :</i>
Polynucléaires.....	39,8	37,5
Grands mononucléaires et moyens mononucléaires....	44,7	32
Lymphocytes....	15,5	30,5

ÉTUDE DU LAPIN 72

Inoculation du 17 mai.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation, hémolyse.

Le 7 juin, également hémolyse.

Pouvoir virulicide.

L'essai est fait au 21^e jour de la vaccination, sur une zone de 5×9 du lapin 77.

Le 14 juin, on note 15 papules sur la zone d'épreuve, la région vaccinée avec le mélange témoin offre une forte éruption confluente.

Revaccination

Pratiquée aussi le 7 juin, en même temps qu'un lapin témoin 72 bis.

Le 14 juin, l'animal étudié ne donne que 10 papules, le témoin 72 bis présente une éruption très considérable.

ÉTUDE DU LAPIN 73

Inoculation du 17 mai.

Réactions de fixation.

Avant l'inoculation : Réaction négative.

15 juin, également réaction négative.

Pouvoir virulicide.

Recherche sur une zone du lapin 73 bis, le 15 juin, c'est-à-dire au 28^e jour de l'inoculation péritonéale.

Le 21 juin, on ne note *aucune papule sur la zone* d'épreuve, la zone témoin est valable.

Revaccination.

Pratiquée le 15 juin, cette revaccination ne donne *aucune éruption. Il n'y a pas une seule papule sur la région vaccinée.* Le témoin est confluent.

L'animal 73 a donc, au 28^e jour de son inoculation péritonéale, un état réfractaire absolu vis-à-vis du vaccin.

Nous aurons à revenir plus loin sur les renseignements fournis par cette expérience.

EN RÉSUMÉ :

Nous avons étudié la vaccination péritonéale, soit à l'aide des sacs de collodion, soit par l'introduction directe, sur un total de 12 animaux.

1° Les animaux 30 et 31 ont reçu une dose considérable de vaccin inséré en sac de collodion.

Les animaux 32, 33, 34 ont reçu de très faibles doses de vaccin frais placé dans les mêmes conditions.

Les animaux 35, 36, 37 ont également reçu, et par la même méthode, des doses faibles d'une solution vaccinale faite en partant d'un tube glycérimé.

Enfin les lapins 70, 71, 72 et 73 ont été inoculés avec une solution vaccinale injectée directement dans la cavité de l'abdomen.

2° Les résultats que nous avons obtenus sont différents suivant les cas :

a) En employant la technique des sacs de collodion il faut se servir de doses fortes de vaccin. L'immunité est alors conférée, mais toujours tardivement, 25 jours environ après l'introduction du sac dans la cavité abdominale (Voir lapins 30 et 31).

b) Quand on emploie des doses faibles on ne peut obtenir qu'une ébauche d'immunité à peine capable de modifier une revaccination ultérieure (Voir lapins 32, 33, 34).

c) Cependant on peut observer quelques cas où l'animal semble un peu plus immunisé, et où la revaccination secondaire est plus nettement atténuée (34, 37).

d) Quant à l'introduction directe du vaccin dans l'abdomen, nous avons suivi la façon progressive dont s'établit l'immunité. En effet :

Le lapin 70, au 7^e jour de sa vaccination péritonéale n'est pas immunisé et son éruption de revaccination cutanée est à ce moment confluyente.

Le n^o 71, au 14^e jour commence à être légèrement réfractaire, puisqu'on ne compte plus que 30 éléments à sa revaccination cutanée d'épreuve.

Le n^o 72, au 21^e jour l'est davantage, on voit seulement 15 éléments à sa revaccination.

Le n^o 73 enfin, est au 28^e jour totalement immunisé.

3^o D'une façon générale donc, il est possible de vacciner un animal tant par l'introduction directe de vaccin, que par la méthode des sacs de collodion. (C'est là une notion récente à laquelle accessoirement, nous apportons notre contribution).

Enfin, l'immunité conférée par la voie séreuse est toujours longue à se produire, alors que l'état réfractaire est plus rapidement acquis par la voie cutanée, sous-cutanée, endoveineuse. Ceci, d'ailleurs, est en rapport avec ce que nous avons vu pour les inoculations vaccinales digestives qui ne produisent également l'immunité qu'après un temps au moins supérieur au 12^e jour.

Notons enfin que chez l'animal inoculé par l'introduction directe de lymphé vaccinale, nous n'avons pu obtenir de réaction de fixation.

4^o Suivant que les animaux inoculés ont ou non acquis l'immunité vaccinale, les réactions humorales ont été parallèlement observées ou absentes.

Les lapins 32, 33, 34 non immunisés par une dose trop faible de vaccin, n'ont jamais présenté de réaction de fixation et de pouvoir antivirulent ; ils n'offraient pas.

non plus, d'état réfractaire à une insertion secondaire sur la peau, tout au plus la revaccination d'épreuve pouvait-elle être moins belle que celle du témoin.

Les lapins 36 et 37 partiellement immunisés, offrent une légère réaction de fixation, et leur sérum neutralise faiblement le vaccin.

Le lapin 31, au contraire, complètement immunisé, offre une réaction de fixation typique, et son sérum est très fortement antivirulent.

Mais ces différentes réactions se sont toujours présentées, les unes précoces, les autres tardives.

Quand l'animal deviendra, par l'inoculation péritonéale, réfractaire à une vaccination nouvelle, il présente *d'abord, et précocement, la réaction de déviation*, alors même que son sérum n'est pas encore antivirulent.

Puis, le pouvoir virulicide s'installe, et la réaction de Bordet disparaît quand l'immunité est définitivement acquise.

Nous saisissons donc ici encore la même succession dans les réactions humorales, signalée chez l'homme, et au cours de nos précédentes expériences.

5 ° Il faut remarquer, enfin, qu'un animal (37) donnant la réaction de fixation vis-à-vis de l'antigène lymph vaccinale, la donne également vis-à-vis de la lymph variolique.

Nous verrons, en étudiant les réactions de fixation chez les varioleux, des faits superposables, et extrêmement intéressants dans leur interprétation.

V. — **Expériences sur la recherche des anticorps vaccinaux dans les organes.**

Les expériences précédentes nous ayant montré dans tous les modes de vaccination l'existence d'anticorps dans le sérum, nous avons voulu rechercher si ces anticorps sont seulement en circulation, ou si on ne peut les déceler dans certains viscères.

Pour cela, nous prélevions les organes de l'animal (foie, rate, quelquefois rein) ; un segment de l'organe était coupé en morceaux et longuement lavé, pour le purger aussi complètement que possible de tout le sang qu'il contenait. Les fragments sont ensuite broyés dans un peu de sérum physiologique. On obtient une bouillie qui est ensuite placée sous la cloche à vide. En quelques jours on a un extrait sec qui est réduit au mortier en poudre fine, avec laquelle il est facile de faire une macération en eau salée dans des proportions précises. Un gramme de poudre d'organe est placé dans 10 centimètres cubes de sérum physiologique stérile. Le mélange est mis deux heures au repos à la glacière. Au bout de ce temps on centrifuge rapidement et le liquide sert aux réactions.

Nous avons ainsi recherché les anticorps vaccinaux dans les organes, après vaccination cutanée, endoveineuse, digestive et péritonéale.

Enfin, quelques expériences ont été réalisées pour déterminer si les exsudats artificiellement provoqués (injection irritante péritonéale, abcès de fixation) chez l'animal immunisé offraient les mêmes réactions humo-

rales que le sérum du sujet, et si en l'inoculant à un animal neuf, ils pouvaient lui conférer l'immunité.

Ces points n'ont jamais été abordés à notre connaissance.

VACCINE CUTANÉE

LAPIN 13. — L'animal a été vacciné sur la peau le 5 novembre 1910. Eruption confluyente. Le 11 novembre, il reçoit dans le péritoine 3 centimètres cubes d'une solution contenant un milligr. de pilocarpine. 48 heures après l'animal est sacrifié.

On trouve dans l'abdomen un liquide abondant contenant quelques leucocytes et des cellules endothéliales. Ce liquide est prélevé, ainsi que la rate.

Réactions de fixation.

Recherché avec le sérum du lapin : négative (voir plus haut).

— avec l'extrait de rate : négative.

— avec le liquide péritonéal : réaction négative.

Pouvoir virulicide.

Le liquide abdominal et l'extrait splénique sont placés au contact du vaccin selon la technique habituelle et des vaccinations d'épreuve sont essayées sur le dos du lapin F sur lequel on dessine des zones de $5 \times 8,5$.

5 jours après, on note les résultats suivants :

La zone témoin offre une éruption confluyente.

La zone vaccinée avec le mélange : extrait splénique + vaccin offre également une éruption confluyente.

La zone vaccinée avec le liquide abdominal + vaccin, présente une éruption de 17 papules sur 42 $1/2$ cent. carrés.

LAPIN C. — Vaccine cutanée du 8 novembre 1910. L'animal est sacrifié le 26 novembre. Les organes (foie et rate) sont desséchés dans le vide et préparés selon la technique décrite.

Réactions de fixation.

Avec le sérum	} Aucune déviation.
Extrait hépatique . . .	
Extrait splénique. . .	

Pouvoir virulicide.

Mélange habituel. Essais sur le lapin K, zone de 5×9 . Au 5^e jour de la vaccination, le sérum C neutralise complètement le vaccin.

L'extrait de rate a un pouvoir virulicide manifeste : on compte seulement 12 éléments sur la zone.

L'extrait hépatique a un pouvoir égal, on compte 20 éléments. La zone témoin est confluyente.

LAPIN L. — Vaccination cutanée du 3 décembre 1910. L'animal reçoit le 19 décembre 1910, dans le péritoine, 3 cent. cubes d'une émulsion stérilisée de mie de pain.

Le 22 décembre, cet animal est sacrifié. Le péritoine contient une assez forte quantité de liquide clair et absolument stérile à l'ensemencement sur gélose et bouillon. Ce liquide est prélevé en même temps que la rate et un fragment de foie.

Pouvoir immunisant du liquide péritonéal.

Le 22 décembre, 2 cent. cubes du liquide prélevé sont inoculés dans les veines du lapin N° 50.

Le 24 décembre, l'animal est vacciné sur le dos, sur un espace de 8×11 , avec la même solution vaccinale on fait un témoin R. Le 29 décembre on note une éruption de moyenne intensité desséchante dès le 5^e jour, les pustules sont petites et aplaties ; au contraire, l'éruption du témoin R est confluyente.

Pouvoir virulicide.

Recherché le 24 décembre 1910, le liquide péritonéal est mêlé au vaccin et essayé sur une zone du lapin S ; une autre zone est vaccinée avec le mélange témoin.

Le 29 décembre, il n'y a pas un seul élément sur la zone d'é-

preuve : le liquide péritonéal neutralise complètement la lymphé vaccinale. La zone témoin est au contraire confluyente.

Nous avons manqué de liquide péritonéal pour pratiquer la réaction de fixation.

Réactions de fixation avec l'extrait de foie et de rate.

Les organes sont traités comme nous l'avons indiqué, et la réaction, pratiquée le 10 janvier 1911, en présence de vaccin de génisse comme antigène.

La rate ne dévie pas le complément.

L'extrait hépatique donne une réaction partielle, l'hémolyse est incomplète et la déviation presque totale au 3^e tube.

LAPIN 93. — Cet animal est vacciné sur le dos le 22 juillet 1911. Le 28 juillet, le sérum ne dévie pas le complément et n'a pas encore de pouvoir virulicide net. A cette date, l'animal est sacrifié.

La rate ainsi qu'une partie du foie sont réduites en poudre après lavage prolongé et dessiccation dans le vide.

La réaction de fixation est alors pratiquée avec les extraits hépatique et splénique :

L'extrait de rate ne dévie pas le complément.

L'extrait hépatique, au contraire, le dévie totalement.

Pouvoir virulicide.

Il a été recherché avec les deux extraits organiques :

L'extrait splénique est indifférent vis-à-vis du vaccin, l'extrait de foie, au contraire, le neutralise presque complètement.

Cette dernière expérience nous montre nettement que l'animal au 6^e jour de sa vaccination cutanée peut déjà présenter des anticorps dans le foie, alors que le sérum n'en possède pas encore de décelables par les mêmes moyens.

VACCINE CUTANÉE DU CHIEN

Un abcès de fixation est pratiqué par injection sous-cutanée d'essence de térébenthine sur le chien A.

Le 21 janvier, on ponctionne l'abcès et on retire une grosse

quantité de pus aseptique contenant des polynucléaires et des mononucléaires en désintégration ; une certaine quantité de ce pus est prélevé, lavé à plusieurs reprises et desséché sous la cloche à vide ; l'extrait obtenu est réduit en poudre par broyage, et mis en macération dans le sérum physiologique pendant 24 heures, à raison de 1 gramme pour 10.

Réaction de fixation.

Pratiquée parallèlement avec le sérum du chien et l'extrait leucocytaire.

Le 9 février 1911, la réaction avec le sérum est totalement positive. Elle est négative avec l'extrait leucocytaire.

Pouvoir virulicide.

L'extrait de leucocyte est mélangé au vaccin et son pouvoir neutralisant est essayé parallèlement à celui du sérum, sur une zone du lapin 57, le 11 février 1911.

Le 18 février, on note 9 papules sur une zone de $9 \times 4,5$. Sur une zone semblable vaccinée avec le mélange sérum-vaccin, on compte 11 éléments. Il y a confluence sur la zone témoin.

Pouvoir immunisant des leucocytes.

Le 15 mars, le lapin N° 64 reçoit dans la veine marginale de l'oreille 2 cent. cubes d'une macération de leucocytes dans du sérum physiologique. Le 18 mars, l'animal est revacciné sur le dos en même temps qu'un témoin. 6 jours après, il présente une éruption de moyenne intensité très notablement inférieure à l'éruption de l'animal témoin. Nous n'avons malheureusement pu étudier le pouvoir virulicide du sérum du lapin 64.

VACCINE DIGESTIVE

LAPIN E. — L'histoire de ce lapin est rapportée d'autre part (voir vaccination digestive).

Ce lapin est mort le 28 novembre 1910. Il avait reçu le 8 novembre du vaccin dans l'estomac. On prélève sa rate et une partie de

son foie qui sont traités selon la technique indiquée et les réactions sont pratiquées avec les extraits hépatiques et spléniques.

Réactions de fixation.

Rappelons que le sérum de cet animal donnait une réaction de fixation positive le 8 novembre 1910. Le 28, au moment de la mort du lapin, elle avait disparu.

L'extrait de rate ne dévie pas le complément, au contraire, l'extrait de foie le *dévie totalement* (7 déco.).

Recherche du pouvoir virulicide.

Les extraits d'organes sont mélangés au vaccin, et les épreuves sont faites sur le lapin N le 7 décembre 1910. On dessine sur son dos 3 zones de $11 \times 4,5$; le 6^e jour de la vaccination, les zones vaccinées, avec les extraits ne présentent aucun élément, la zone témoin offre une belle éruption. A la même date, le sérum du lapin tuait le vaccin en grande partie, mais non d'une façon totale.

LAPIN G. — L'histoire de ce lapin est également rapportée plus haut (vaccination digestive). Il est sacrifié le 22 décembre 1910. Un extrait de foie et de rate est préparé.

Réaction de fixation.

Recherchée le 10 janvier, on obtient, avec l'extrait hépatique, une réaction de fixation typique, il n'y a pas de déviation avec l'extrait de rate.

Pouvoir virulicide.

Le 14 janvier 1911, on dessine sur le dos du lapin 53, 3 zones de $11 \times$ par 6 pour l'essai du pouvoir virulicide de l'extrait de foie, de rate et du mélange témoin.

Le 20 janvier on note :

L'extrait hépatique neutralise complètement le vaccin, il n'y a aucun élément sur 66 centimètres carrés;

L'extrait splénique atténue nettement la lymphé, on compte 24 éléments sur la même zone;

Le mélange témoin donne une éruption allant à la confluence.

LAPIN O. — Vaccination digestive du 10 décembre 1910, et revaccination cutanée du 22 décembre. L'animal meurt le 1^{er} janvier 1911. Le foie, la rate, le rein sont prélevés et traités selon la technique indiquée. Les macérations sont faites dans l'eau physiologique à la dose de 1 pour 10.

Réaction de fixation.

Pratiquée le 14 janvier 1911, en présence de pulpes fraîches de génisse comme antigène.

Extrait de rate : Réaction négative.

Extrait de rein : » »

Extrait de foie : Réaction positive.

Pouvoir virulicide.

Les extraits organiques sont mélangés au vaccin et essayés sur le lapin 52.

L'extrait de foie atténue fortement le vaccin, on compte 45 papules sur 50 centimètres carrés. Il y a confluence sur la zone vaccinée avec l'extrait de rate et sur la zone témoin.

VACCINE PÉRITONÉALE

LAPIN 30. — Ce lapin a été vacciné par l'introduction de sacs de collodion dans le péritoine, le 19 décembre 1910, et a été revacciné sur le tégument le 24 décembre (voir plus haut). Il meurt le 31 décembre.

Des extraits hépatiques et spléniques sont préparés.

Réactions de fixation.

14 janvier 1911, l'extrait splénique ne dévie pas le complément ;
L'extrait hépatique donne une réaction positive typique.

Pouvoir virulicide.

Les extraits organiques sont mélangés au vaccin et essayés sur une zone de 4 × 10 du lapin 51, 14 janvier 1911. 6 jours après,

la zone vaccinée avec l'extrait de foie mêlé au vaccin, présente 36 papules sur 40 centimètres carrés. Il y a confluence sur la zone préparée avec l'extrait splénique, et sur la zone témoin.

VACCINE ENDOVEINEUSE

LAPIN 79. — L'animal a reçu le 16 juin 1911, une injection de 2 centimètres cubes de vaccin au 1/100^e (voir plus haut). Son sérum donne une réaction de fixation positive, et neutralise le vaccin.

Le 9 juillet, on injecte 20 centimètres cubes de bouillon stérile dans la cavité péritonéale de l'animal. 15 heures après, il est sacrifié. On retire quelques centimètres cubes de liquide péritonéal on prend également un fragment de foie et la rate pour obtenir des extraits organiques.

Réactions de fixation,

(Noter que le 4 juillet cette réaction commençait à disparaître avec le sérum de cet animal, elle était totalement positive le 21 juin).

On n'observe de réactions de fixation ni avec le liquide péritonéal, ni avec les extraits spléniques ou hépatiques prélevés le 10 juillet.

Pouvoir virulicide.

Le liquide retiré de l'abdomen possède, ainsi que l'extrait hépatique, un pouvoir neutralisant comparable à celui du sérum.

LAPIN 86. — L'animal a reçu 5 injections de 1 centimètre cube de vaccin à 1/100^e, du 16 juin au 21 juin 1911. Le sérum est antivirulent et dévie le complément.

L'animal est sacrifié le 10 juillet, on n'obtient de réaction de fixation ni avec l'extrait hépatique, ni avec l'extrait splénique. La recherche du pouvoir virulicide n'a pas été faite.

EN RÉSUMÉ :

Des faits précédents nous résumerons les points suivants :

1° Les exsudats provoqués chez un animal vacciné présentent au même titre que le sérum, un pouvoir antivirulent (Voir lapins 13; L, 79, chien A).

2° Il faut noter tout particulièrement le pouvoir virulicide des extraits leucocytaires obtenus par abcès de fixation : aussi, peut-on entrevoir un intéressant chapitre d'étude que nous abordons d'ailleurs en ce moment, et que l'on nous permettra de seulement signaler ici.

3° Nos tentatives pour conférer passivement l'immunité en partant de ces exsudats provoqués, nous ont fourni des résultats assez nets, mais en trop petit nombre pour en tirer quelque argument.

4° Les anticorps vaccinaux peuvent être mis en évidence tout spécialement dans le foie, mais à ce point de vue les résultats diffèrent selon le mode d'introduction de la lymphe vaccinale.

a) Pratiquant dans un cas cette recherche peu de temps après une vaccination cutanée (5 jours), alors que le sérum ne présente pas encore de réaction humorale, le foie semble déjà contenir des anticorps, son extrait dévie le complément, et il est en même temps neutralisant. L'extrait splénique au contraire, n'offre ni l'une ni l'autre de ces réactions.

Quand cette recherche est plus tardivement faite après la vaccination cutanée, l'extrait hépatique se montre encore antivirulent à un degré plus ou moins marqué, mais ne dévie plus l'alexine vis-à-vis d'une lymphe vaccinale.

b) 3 lapins vaccinés par voie digestive, et 1 par voie péritonéale, nous ont fourni des extraits hépatiques donnant toujours la réaction de déviation, avec très grande netteté, et possédant parallèlement un pouvoir antivirulent. Jamais l'extrait splénique n'a produit de fixation et il s'est toujours montré peu virulicide. Il en est de même pour le rein.

c) Les extraits hépatiques et spléniques de lapins ayant reçu du vaccin dans les veines, et sacrifiés en pleine période d'immunité, n'ont pas fixé le complément mais ils peuvent être antivirulents.

5° Les extraits organiques d'animaux neufs ne peuvent produire ni fixation spontanée, ni neutralisation du vaccin.

VI. — Recherches de contrôle.

Rappelons que nous avons accumulé, autant que faire se peut les témoins dans toutes nos expériences.

1° A plusieurs reprises, nous avons recherché si un animal donnant la réaction de fixation avec une lymphe de génisse, la donnait également avec d'autres lymphes vaccinales, et nous avons trouvé des résultats comparables en employant les produits vaccinaux de génisse, de lapin et d'homme.

2° Employant d'autres antigènes (exsudats provoqués par irritation, antigène syphilitique, tuberculine, streptocoques tués), nous n'avons jamais observé de fixation.

Nous avons d'autre part, rapporté plus haut, nos expériences de contrôle faites avec un vaccin atténué ou tué par le chauffage.

3° Des lapins neufs n'ont jamais dévié le complément ; ainsi que des chiens avant l'inoculation vaccinale.

4° Nous avons insisté ailleurs sur les témoins indiquant, à chaque expérience, la validité des résultats.

CHAPITRE II

RECHERCHES SUR LES RÉACTIONS HUMORALES DE LA VARIOLE

SOMMAIRE

- I. — Technique des expériences. — La préparation de l'antigène. — Emploi de la lymphe vaccinale et des produits varioliques.
- I. — Résumé de trente-six observations cliniques. — Recherches, dans chaque cas, des différentes réactions humorales : pouvoir antivirulent. — Réaction de fixation vis-à-vis de l'antigène vaccinal et variolique. — Revaccination. — Hématologie. — Tableaux synoptiques des résultats obtenus aux différentes périodes de l'infection.

Résumé des faits, p 179.

Etudiant les réactions humorales de la vaccine humaine et expérimentale, nous voulions comparativement rechercher, par l'emploi des mêmes techniques, l'existence d'anticorps chez les varioleux.

A partir de quel moment apparaissent-ils dans le sérum ? Présentent-ils une égale affinité pour l'antigène variolique et l'antigène vaccinal ?

Ainsi, nous abordions par l'étude de la réciprocité de leurs réactions humorales, les rapports de la variole et de la vaccine.

Nous avons signalé plus haut que depuis les belles recherches de Bécère, Chambon et Ménard sur l'action antivirulente du sérum des varioleux, il n'existe en France aucun travail s'attachant à cette question.

Nous aurions désiré, pour étudier d'une façon superposable les anticorps de la variole et de la vaccine, pratiquer des variolisations expérimentales par les diverses voies, comme nous l'avions fait pour les vaccinations cutanées et non tégumentaires. Mais, l'absence totale pendant 18 mois, de cas de variole à l'hôpital Claude-Bernard, ne nous a pas permis de commencer à temps ce travail.

(Nous avons vainement cherché, même en province, des cas de variole, pendant l'année 1911 ; nous avons pu trouver à l'hôpital de la Conception à Marseille, dans le service du docteur Alezais, un varioleux dont nous rapportons l'observation en premier).

L'épidémie sévissant d'octobre 1911 à mai 1912, nous a fourni, par contre, suffisamment de cas pour que nous puissions apporter dans ce travail une étude sur les anticorps dans la variole humaine.

Technique.

La recherche du pouvoir antivirulent des varioleux a été pratiquée exactement de la même façon que pour le sérum des vaccinés.

La réaction de fixation a été également effectuée selon le dispositif expérimental décrit plus haut.

Comme antigène, nous avons toujours (dans la 1^{re} série d'observations) employé parallèlement des produits

vaccinaux, lymphes fraîches de génisse et des produits varioliques. Nous nous sommes servis soit de lymphes, soit de croûtes de varioleux. Nous faisons, de l'un ou l'autre de ces antigènes, une macération dans le sérum physiologique après broyage prolongé au mortier, et dosage dans les proportions de 1 à 50.

Nous avons comparativement étudié, sur plusieurs cas, la valeur respective de la lymphe et des croûtes. Nous l'avons toujours trouvée comparable, peut-être même les croûtes peuvent-elles servir encore mieux comme antigène ; cela est, à notre avis, d'un réel intérêt, une provision de croûtes étant facile à faire et à conserver, ce qui permet de pratiquer la réaction de fixation, en dehors d'un laboratoire hospitalier.

Nous allons rapporter successivement les observations cliniques et les recherches faites dans chacun des cas.

OBSERVATION DU VARIOLEUX DE MARSEILLE

Malade arrivant des Indes anglaises, atteint de variole confluyente et n'ayant jamais été vacciné. Toutes ses lésions étaient, au moment où nous le vîmes, complètement desséchées et recouvertes de croûtes.

Nous pratiquons une prise de sang par ponction veineuse, le 23 avril 1911. La réaction de fixation est faite à Paris le lendemain, 24 avril, en présence de vaccin frais de génisse comme antigène et également en présence d'une macération de croûtes varioliques provenant du même malade et rapportées en même temps que son sérum.

Nous obtenons, avec ces deux antigènes, une déviation complète et typique. La même déviation est également observée en prenant du vaccin de lapin : elle n'a pas lieu avec emploi d'antigène syphilitique.

La recherche du pouvoir virulicide du sérum est faite 6 la même date : le vaccin est totalement neutralisé.

Epidémie récente.

PREMIÈRE SÉRIE D'OBSERVATIONS

Obs. 1. — Del. ., Pierre, 58 ans, entre le 16 octobre 1911 à Claude-Bernard, pavillon Mourier, n° 20. Ce malade n'a pas été vacciné depuis son enfance.

Le 13 octobre, il est pris de fièvre et de céphalée. Le 15, apparaît le début de l'éruption sur les mains ; le malade prenant le tramway, se rend à l'hôpital Saint-Louis, d'où il est dirigé sur Claude-Bernard.

Le 16 octobre, à l'entrée, le malade présente une éruption vésiculeuse généralisée, dont les éléments sont surtout nombreux à la figure et aux fesses.

Tous les éléments sont au même stade. On trouve des lésions au niveau du pharynx et du voile du palais.

Le 18 octobre les éléments sont encore plus nombreux, quelques-uns deviennent pustuleux et s'ombiliquent. La dessiccation commence le 23, se poursuivant normalement, elle est terminée le 31 octobre. L'évolution de la variole se fait sans complication.

Traitement : 80 gouttes de xylol pendant 7 jours : le malade quitte l'hôpital au 40^e jour, complètement guéri.

Vaccination.

Le malade est vacciné le 18 octobre, on n'observe aucune réaction, même pas d'aréole précoce et passagère.

Examen du sang

Pratiquée le lendemain de l'entrée, on trouve :

globules rouges : 3.860.000

— blancs : 12.500

Pourcentage : technique bleu de marino, éosine-orange.

Polynucléaires	48
Grands et moyens mononucléaires	38,3
Lymphocytes	7
Myélocytes basophiles	1,3
Plasmastzellen	1,6
Eosinophiles	3,3
Mastzellen	0,3

Pouvoir virulicide.

Le 19 octobre, la recherche de ce pouvoir est faite :

Avec le sérum ;

Avec le liquide céphalo-rachidien ;

Avec les urines ;

en pratiquant des vaccinations d'épreuve sur les lapins 102 et 103.

6 jours après, le 23 octobre, on remarque que le sérum du varioleux a totalement neutralisé le vaccin, pas un seul élément sur la zone vaccinée.

Le liquide céphalo-rachidien le tue en grande partie, on note 10 papules sur la zone d'épreuve. Un liquide céphalo-rachidien normal, essayé comparativement ne modifie en rien la virulence d'un vaccin.

Les urines se sont montré également virulicides, mais l'urine normale, étudiée par comparaison, atténuait tellement le virus qu'il est difficile de conclure.

Réactions de fixation.

Elles furent chaque fois pratiquées en présence d'un antigène vaccinal et variolique.

16 octobre (sérum pris à l'entrée) :

Antigène vaccinal : Réaction négative.

Antigène variolique : Réaction positive.

A la même date le liquide céphalo rachidien ne donne aucune réaction de fixation.

25 octobre. *Ant. vaccinal* : R. positive.

— *Ant. variolique* : R. positive.

31 — *Ant. vaccinal* : R. positive.

— *Ant. variolique* : R. négative.

10 novembre. Avec les deux antigènes, la réaction est négative.

Remarquons dès maintenant que la réaction de fixation ayant apparu d'abord vis-à-vis de l'antigène variolique, a disparu d'abord également vis-à-vis de ce dernier. Avec la lymphé vaccinale, la déviation complémentaire se poursuit un peu plus longtemps, pour disparaître ensuite. Nous referons la même constatation dans plusieurs observations.

Obs. II. - Eb. ., François, 65 ans, entre le 20 octobre, pavillon Mourrier, n° 27.

N'a pas été vacciné depuis son enfance. Après une période d'invasion peu intense dans ses symptômes, les premières lésions apparaissent le 16 octobre.

Le 2^e, on observe une éruption vésiculo-pustuleuse déjà généralisée sur tout le tégument; les éléments ont tendance à se fusionner. Confluence sur la face. Pustules sur la voile et le pharynx.

Le 23 octobre, l'éruption devient cohérente.

Le 25, le malade meurt.

Examen du sang.

Pratiqué le jour de l'entrée :

Polynucléaires	49,5
Grands mononucléaires et moyens mononucléaires.	37,5
Lymphocytes	8
Myélocytes neutrophiles..	0,7
Plasmastzellen	1
Eosinophiles.....	3
Mastzellen.....	0,2

Pouvoir virulicide.

Recherché par vaccination d'épreuve sur le lapin 104.

Zone antérieure : sérum et vaccin ;

Zone postérieure : mélange témoin.

Le 23 octobre, on compte : sur la première zone : aucun élément,
sur la zone témoin : confluence.

Réactions de fixation.

Ant. vaccinal : Réaction positive typique.

Ant. variolique : Réaction positive typique.

A l'autopsie du malade, on prélève des fragments de foie et de rate, des extraits sont préparés selon la technique indiquée plus haut. Vis-à-vis de la lymphé vaccinale et variolique, ces extraits ne donnent aucune réaction de déviation.

OBS. III. — Poul..., Malvina, 49 ans, laitière, entre pavillon Mourier, n° 25, le 23 octobre 1911.

Elle est entrée à l'Hôtel-Dieu, le 20 octobre pour de la courbature et une angine. Le 22, l'éruption apparaît, et elle est adressée à l'hôpital des contagieux.

23 octobre. Pustules, quelques-unes ombiliquées disséminées sur tout le corps, spécialement sur la face.

Enanthème vésiculeux sur la muqueuse de la bouche et du pharynx.

26 octobre. Tous les éléments sont en suppuration.

28 octobre. La dessiccation commence, elle se poursuit normalement. L'évolution se fait sans complication, et la malade sort guérie le 20 novembre.

Traitement. L et LXXX gouttes de xylol pendant 5 jours.

Examen du sang.

Il fut pratiqué le 23 octobre :

Polynucléaires	40,3
Grands mononucléaires et moyens mononucléaires	53,6
Lymphocytes	3,6
Plasmazellen	0,3
Mastzellen	0,3
Eosinophiles	1,6

Pouvoir virulicide.

Recherché le 26 octobre.

Vaccination d'épreuve sur le lapin 107.

La zone d'essai ne présente pas un seul élément vaccinal.

La zone témoin est confluyente.

Réactions de fixation.

23 octobre. *Ant. vaccinal* : R. négative.

— *Ant. variolique* : R. positive.

3 novembre. *Ant. vaccinal* : R. positive partielle, déviation
dans 2 tubes sur 3.

— *Ant. variolique* : R. positive.

10 novembre. *Ant. vaccinal* : R. négative.

— *Ant. variolique* : —

OBS. IV. — Pel. . . , Antoine, 29 ans, cuisinier, entre au pavillon Mourier, N° 28, le 26 octobre 1911.

Il n'avait pas été vacciné depuis l'âge de 15 ans. Il arrive à l'hôpital avec une éruption généralisée cohérente sur la face. Les éléments sont par place constitués par des vésicules ecchymotiques.

Le 30 octobre, début de la suppuration ; le malade fait alors une complication broncho-pneumonique et meurt le 2 novembre.

Le sérum de ce malade est pris le 27 octobre et une réaction de fixation pratiquée.

Réactions de fixation.

27 octobre. *Ant. vaccinal* : R. positive partielle.

— *Ant. variolique* : R. négative.

OBS. V. — Del. . . , Georges, 42 ans, forain. Entre le 5 novembre, pavillon Mourier, N° 4.

Il arrive à l'hôpital avec une éruption généralisée constituée par des papules et des vésicules, dont quelques-unes commencent à s'ombiliquer sur le membre inférieur. Elles présentent par place un caractère hémorragique.

Le 9 novembre, l'éruption est confluyente et la suppuration apparaît.

Dessiccation à partir du 15 novembre. Au début de décembre, le malade est en très bonne santé.

Le sang du malade a été prélevé le jour de l'entrée.

Réactions de fixation.

6 novembre 1911. *Ant. vaccinal* : R. négative.

— *Ant. variolique* : R. douteuse ?

Le malade étant syphilitique, on fait immédiatement une réaction de Wassermann ; elle est nettement positive.

24 novembre. *Ant. vaccinal* : Réaction positive.

— *Ant. variolique* :

29 novembre. *Ant. vaccinal* : R. positive mais seulement dans 2 tubes sur 3.

— *Ant. variolique* : R. positive, également dans 2 tubes sur 3.

8 décembre. *Ant. vaccinal* : R. négative.

— *Ant. variolique* : R. négative.

Pouvoir virulicide.

Il a été recherché sur le lapin 109, à l'entrée du malade.

La zone vaccinée avec le mélange sérum + vaccin ne présente pas un seul élément. La zone témoin est confluyente.

Revaccination.

A été pratiquée le 30 novembre 1911, sur le bras gauche. Le malade présente une immunité *absolue* vis-à-vis du vaccin, il n'y a aucune trace de réaction.

OBS. VI. — Guar..., Fernand, 33 ans, entre au pavillon Mourier le 16 novembre, lit n° 18.

Le malade a présenté une période d'invasion assez nette d'une huitaine de jours. Il offre à son arrivée une éruption discrète à des stades différents : dans certaines régions, ce sont des vésicules

qui déjà s'ombilique ; dans d'autres elles sont en voie de dessiccation. Peu de lésions de la gorge. L'évolution se fait normalement sans aucune complication.

Il faut noter que la dernière vaccination de ce malade ne remonte qu'à 3 ans, et il ne présente qu'une variole atténuée.

Examen du sang.

Polynucléaires.....	40
Grands et moyens mononucléaires.....	47
Lymphocytes.....	10
Eosinophiles.....	2
Plasmastzellen.....	1

Réactions de fixation.

- 20 novembre. *Ant. vaccinal* : R. positive.
 — *Ant. variolique* : R. positive mais dans deux tubes sur trois.
 29 novembre. *Ant. vaccinal* : R. positive.
 — *Ant. variolique* : R. négative.
 8 décembre. *Ant. vaccinal* : R. encore positive.
 — *Ant. variolique* : R. négative.

Revaccination.

Pratiquée le 30 novembre, le sujet est totalement réfractaire au vaccin ; après l'insertion il ne se produit absolument aucune réaction.

Remarquons que dans cette observation la déviation complémentaire vis-à-vis de la lymphé vaccinale a eu une durée notablement plus longue que celle obtenue vis-à-vis de la lymphé variolique.

Obs. VII. — Rol. . . Alice, 27 ans, entre le 18 novembre 1911, Pavillon Mourier, lit 29.

N'a pas été vaccinée depuis son enfance.

Elle présente à son arrivée une éruption discrète disséminée sur tout le tégument, formée par des vésicules dont quelques-unes

sont déjà ombiliquées. On trouve quelques éléments peu nombreux sur le voile du palais.

La dessiccation commence le 25 novembre et est achevée le 30.

L'évolution se fait sans complication et la malade est complètement guérie au début de décembre.

Réactions de fixation.

20 novembre	<i>Ant. vaccinal</i>	: R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i>	: R. positive.
—	<i>Ant. vaccinal</i>	: déviation totale.
—	<i>Ant. variolique</i>	: déviation totale.
8 décembre.	<i>Ant. vaccinal</i>	: R. positive, mais l'hémolyse apparaît aux tubes 1 et 2.
—	<i>Ant. variolique</i>	: R. négative.

Revaccination.

Pratiquée le 30 novembre. Le 1^{er} décembre on observe à peine une très légère rougeur : l'insertion vaccinale n'est suivie d'aucune réaction.

Obs. VIII. — Dand. . François, 66 ans, entre pavillon Mourier, N° 30, le 19 novembre 1911.

Sa dernière vaccination remonte à 40 ans.

A l'entrée, éruption cohérente, quelques éléments ecchymotiques quelques vésicules sont ombiliquées. Rougeur diffuse sur la gorge. La dessiccation commence le 25 novembre, elle se fait normalement et il n'y a aucune complication.

Réactions de fixation.

20 novembre.	<i>Ant. vaccinal</i>	: R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i>	: R. positive.
29 novembre.	<i>Ant. vaccinal</i>	: R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i>	: R. positive.
8 décembre.	<i>Ant. vaccinal</i>	: R. positive partielle, il y a hémolyse aux tubes 1 et 2.
—	<i>Ant. variolique</i>	: R. négative.

Remarquons encore ici qu'avec l'antigène vaccinal, la réaction dure plus longtemps qu'avec l'antigène variolique.

Revaccination.

Pratiquée le 30 novembre. Aucun phénomène réactionnel.

OBS. IX. — Ter... Anna, 34 ans, entre le 20 novembre 1911, pavillon Mourier, N° 25.

Elle présente des éléments papulo-vésiculeux sur tout le corps. Il y a des vésicules sur le voile du palais et les amygdales.

Le 22 novembre, l'éruption est en pleine suppuration. A partir du 25, début de la desquamation, l'évolution se fait normalement et sans complication.

Réactions de fixation.

20 novembre. *Ant. vaccinal* : R. positive.

— *Ant. variolique* : R. positive.

28 novembre. *Ant. vaccinal* : R. positive.

— *Ant. variolique* : R. positive.

8 décembre. *Ant. vaccinal* : R. encore positive.

— *Ant. variolique* : R. négative.

Revaccination.

Pratiquée le 30 décembre, aucune lésion.

OBS. X. — Le D... Léon, 30 ans, entre le 21 novembre 1911, au pavillon Mourier.

Vacciné il y a 2 ans 1/2 pour la dernière fois.

Il présente, à son arrivée, une éruption sur la face et la partie supérieure du thorax, au stade de la vésiculation. Rien à la gorge. La dessiccation apparaît rapidement et se termine en quelques jours. L'évolution se poursuit normalement : il s'agit d'une forme extrêmement discrète pour laquelle le diagnostic était même hésitant à l'entrée du malade, et l'on se demandait s'il ne s'agissait pas d'une varicelle.

Réactions de fixation.

23 novembre.	<i>Ant. vaccinal</i> :	R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i> :	R. positive.
29 novembre.	<i>Ant. vaccinal</i> :	R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i> :	R. positive.
8 décembre.	<i>Ant. vaccinal</i> :	R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i> :	R. négative.

Revaccination.

Pratiquée le 30 novembre. Aucune réaction.

Examen du sang.

Polynucléaires	61
Grands mononucléaires et moyens mononucléaires	36,6
Eosinophile.....	1,6
Mastzellen.....	0,6

Obs. XI. — Guar..., Léontine, 25 ans, entre le 26 novembre au pavillon Mourier. La malade a été vaccinée huit jours avant le début de l'éruption, son mari ayant été également atteint de la variole (Voir Obs. VI).

A l'entrée, elle présente quelques éléments papulo-vésiculeux sur le visage et le dos.

Les éléments commencent à s'ombiliquer le 29. La dessiccation débute au commencement de décembre. L'évolution se poursuit sans aucune complication.

Noter que chez cette malade la vaccination ne fut accompagnée d'aucune réaction, et qu'il y eut simultanément une évolution vaccinale et variolique. Sa variole fut d'ailleurs très atténuée.

Réactions de fixation

28 novembre.	<i>Ant. vaccinal</i> :	déviati on incomplète.
—	<i>Ant. variolique</i> :	déviati on incomplète.
8 décembre.	<i>Ant. vaccinal</i> :	R. positive.
—	<i>Ant. variolique</i> :	R. négative.

Revaccination

Pratiquée le 30 novembre, ne détermine aucune réaction.

Obs. XII. — Veuve Rab..., 27 ans, entre le 2 décembre, pavillon Mourier, N° 12.

On remarque une éruption de vésiculo-pustules disséminées sur la face et sur l'abdomen.

On trouve quelques lésions sur le voile du palais et l'arrière-gorge.

La suppuration commence le 6 décembre, et la dessiccation débute le 8, elle se poursuit normalement.

L'évolution se fait sans aucune complication.

Réactions de fixation

Le sérum a été pris le jour de l'entrée.

2 décembre. *Ant. vaccinal* : R. négative.

— *Ant. variolique* : R. négative.

8 — *Ant. vaccinal* : R. positive.

— *Ant. variolique* : R. douteuse ?

Pour rendre plus clair les faits, nous résumerons dans le tableau ci-joint, le résultat des réactions de fixation obtenues dans cette première série d'observations.

Autant qu'il nous a été possible, nous avons noté nos expériences suivant le moment de l'éruption dans chaque cas. On verra ainsi, dans les quatre colonnes du tableau, le caractère des réactions aux différents moments.

Ce groupement est forcément un peu schématique ; les prises de sang n'étant pas toujours effectuées à des périodes superposables dans nos observations.

Ces réserves faites, nous distinguons quatre périodes :

1° Le stade du début et des vésico-pustules (nos malades arrivaient le plus souvent, ayant déjà des éléments suppurés) ;

2° La période comprenant la suppuration et le début de la dessiccation ;

3° La période terminale de la dessiccation et début de la desquamation ;

4° La fin de la desquamation.

Tableau synoptique.

NUMÉROS des observations.	STADE des vésiculo- pustules.	STADE de suppuration début de la dessiccation	FIN de la dessiccation. Début desquamât.	FIN desquamât. (23°-30° j.).
Obs. de Mar- seille.	—	+ + + +		
Observ. II.	— + +	+ + + +	+ + —	— —
Observ. II.		+ + + +	le malade meurt.	
Observ. III.	— + +	+ + +		— —
Observ. IV.	+ —	le malade meurt.		
Observ. V.	— + ?	+ + + +	+ +	— —
Observ. VI.		+ + +	+ + —	+ —
Observ. VII.	+ + + +	+ + + +		+ —
Observ. VIII.	+ + + +	+ + + +		+ —
Observ. IX.	+ + + +	+ + + +		+ + —
Observ. X.	+ + + +	+ + + +		+ + —
Observ. XI.	+ ? + ?		+ + —	
Observ. XII.	— —	+ + + ?		

LÉGENDE : Les signes supérieurs représentent les résultats des réactions de fixation obtenus avec l'antigène vaccinal ; les inférieurs représentent ceux obtenus avec l'antigène variolique.

+ + = R. positive dans les 3 tubes. + = R. positive, 2 tubes sur 3.

? = R. douteuse.

DEUXIÈME SÉRIE D'OBSERVATIONS

L'épidémie de variole se poursuivant, nous avons continué nos recherches ; mais nous n'avons pu les effectuer qu'avec un antigène variolique, ne voulant point introduire de vaccin dans les locaux de l'hôpital Claude-Bernard où se poursuivaient d'autre part, des expériences sur le variolo-vaccin des cochons.

Obs. XIII. — M^{me} March . . , 23 ans, entre à l'hôpital Claude-Bernard, le 2 mars 1912, malade depuis cinq jours, présentant un rash hémorragique en ceinture descendant jusque sur les cuisses et de nombreux éléments répartis sur le corps, durs, blanchâtres et saillants.

Cette malade est traitée dès son entrée par des injections de sérum de varioleux, elle reçoit ainsi une injection intraveineuse de 10 centimètres cubes et injection sous-cutanée de 20 centimètres cubes.

Le lendemain, nouvelle injection de 12 centimètres cubes ; l'évolution de cette grave variole fut excellente et dès le 9 mars, il y a un début de dessiccation, la desquamation se poursuit jusqu'aux premiers jours du mois d'avril.

Réactions de fixation

12 mars : R. douteuse.

22 — R. partielle, déviation dans un tube seulement.

6 avril : Même type de réaction.

Il est à remarquer ici le début tardif de la réaction et à noter que la malade a été traitée par le sérum.

Obs. XIV. — Madame B. . . , entre le 28 février à l'hôpital Claude-Bernard pour une variole légère présentant quelques éléments acnéiques très discrets sur le visage, le cou et les cuisses, dessiccation à partir du 6 mars. La malade traitée par le xylol sort

le 31 mars conservant seulement quelques cicatrices sur le front et le menton.

Réactions de fixation.

12 mars : réaction positive.

29 mars : la réaction a presque entièrement disparu quoique cependant l'hémolyse ne soit pas absolue dans les deux derniers tubes.

Revaccination.

Pratiquée le 26 mars ; la malade avait subi une vaccination le 18 février et elle réagit à la nouvelle inoculation selon le type de la réaction précoce.

Obs. XV. — Madame Port . . . , 39 ans, entre le 19 mars à l'hôpital Claude-Bernard, offrant sur le front et l'abdomen une éruption discrète, confluyente au contraire sur le visage. Le 20 mars on pratique la sérothérapie en injectant sous le tégument 25 cent. ³ de sérum de varioleux, nouvelle injection le lendemain de 15 cent. ³ l'évolution est favorable, la dessiccation commence le 27 mars, la desquamation les premiers jours d'avril.

Réactions de fixation.

22 mars : Réaction partielle.

5 avril : Réaction positive.

16 — : —

25 — : Réaction négative.

Obs. XVI. — Madame Ruf . . . , âgée de 34 ans, entre le 14 février à l'hôpital Claude-Bernard.

N'ayant pas été vaccinée depuis son enfance, elle offre une éruption confluyente constituée par des éléments ombiliqués et suppurés à la face. Début de la dessiccation le 25 février, la desquamation se poursuit jusqu'au 20 mars. On lui injecte sous la peau le 17 février 25 cent. ³ de sérum de varioleux et le traitement ayant été commencé dès le 15 par le xylol, il est continué quotidiennement jusqu'au 27 mars. La malade sort guérie le 11 avril 1912.

Réactions de fixation.

25 février : Réaction positive.
5 mars : —
18 — —
29 mars : Réaction positive dans un seul tube.
11 avril : Réaction négative.

Revaccination.

Pratiquée le 26 mars aucune réponse reellement distincte d'un simple traumatisme.

Obs. XVII. — Monsieur Droh . ., Emile, 22 ans, entre à l'hôpital Claude-Bernard le 27 février 1912 avec une variole cohérente et un rash purpurique en caleçon, le jour même de l'entrée il reçoit 18 cent.³ en injection sous-cutanée de sérum varioleux, le surlendemain nouvelle injection de 15 cent.³, évolution rapidement satisfaisante: la desquamation est totale à la date du 20 mars et le malade sort guéri le 6 avril.

Réactions de fixation.

15 mars : Réaction positive
29 — —
5 avril : Réaction négative.

Revaccination.

Pratiquée le 26 mars on ne note rien autre que les traces de traumatisme.

Obs. XVIII. — Mademoiselle R. ., Renée, 16 ans, entre le 27 février à l'hôpital Claude-Bernard avec une éruption confluyente à la face, cohérente sur le corps ; éléments au stade de vésiculopustules ombiliquées, quelques éléments hémorragiques.

Dessiccation rapide, complète le 5 mars, desquamation achevée le 20, traitement au xylol pendant 8 jours. La malade sort guérie le 12 avril.

Réactions de fixation.

15 mars : Réaction positive
29 — — partielle
11 avril : — négative.

Revaccination.

Pratiquée le 26 mars ; on ne note rien que les traces du traumatisme.

Obs. XIX. — Mme Gla..., Marie, 34 ans, arrive à l'hôpital Claude-Bernard, le 28 février 1912 avec une éruption cohérente à la face, formée d'éléments en pleine suppuration ; sur le corps l'éruption est discrète. Dessiccation complète vers le 10 mars et desquamation achevée le 20 ; sort le 27. Traitement au xylol pendant 6 jours.

Réactions de fixation.

15 mars : R. positive
26 mars : R. négative.

Obs. XX. — Mme Pauti..., variole ayant débuté en novembre 1911 ; pas encore étudiée au point de vue de la réaction de fixation ; faite le 29 mars, elle est négative.

Obs. XXI. — M. Matif..., Edmond, 44 ans, arrivée à l'hôpital Claude-Bernard, le 28 mars avec une variole confluente et quelques éléments ecchymotiques, reçoit le jour de son entrée et le lendemain une injection de 40 centimètres cubes de sérum de varioleux.

La suppuration, commence le 1^{er} avril, l'état général devient très mauvais et le malade meurt le 8 avril.

Réactions de fixation.

Faite le 31 mars et le 4 avril.
Elles sont négatives.

OBS. XXII. — Mme Jac. . . , 42 ans, vient à l'hôpital Claude-Bernard, le 31 mars 1912 présentant un rash hémorragique occupant tout le bas ventre et une série d'éléments disséminés sur le corps et sur les muqueuses ; le 1^{er} avril on fait une injection de sérum de varioleux de 14 centimètres cubes ; nouvelle injection le 3 avril ; dans les jours suivants le rash s'efface, l'état général est bon, la dessiccation commence vers le 10, la desquamation est presque complète à la fin du mois.

La malade sort guérie le 10 mai.

Réactions de fixation.

- 2 avril : R. négative.
- 11 — R. partielle
- 16 — R. partielle
- 25 — R. négative.
- 3 mai : R. négative.

OBS. XXIII. — M. Bordie . . . , 24 ans, entre le 6 mars à l'hôpital Claude-Bernard avec une éruption constituée par des éléments pustuleux disséminés sur le corps, confluant seulement à la face.

Quelques éléments sur les muqueuses, dessiccation rapide. Le malade sort le 30 du mois.

Réactions de fixation.

- 15 mars : R. positive
- 30 — R. partiellement positive :
 - Déviation dans le troisième tube ;
 - Hémolyse dans les deux autres.

OBS. XXIV. — Mme Zanel . . . , âgée de 35 ans, entre le 29 mars 1912 présentant une éruption discrète, légèrement confluyente sur le visage, évolution rapide, desquamation à partir du 15 avril, sort le 20 avril ; traitement au xylol.

Réactions de fixation.

- 5 avril : R. négative.
14 — R. négative.
15 — R. positive (2 tubes sur 3).
28 — R. positive partielle.

(Noter que cette malade n'a présenté que des éléments fort peu nombreux et que l'évolution a été apyrétique).

Obs. XXV. — Mme Bouch..., 33 ans, est amenée à l'hôpital Claude-Bernard, le 31 mars 1942 ; présentant une variole cohérente à éléments acnéiformes ; état général bon ; dessiccation des éléments à partir du 10 avril, desquamation achevée le 25 et la malade sort guérie le 40 mai, traitement par le xylol.

Réactions de fixation.

- 5 avril : R. positive.
14 — R. positive.
16 — R. positive.
22 — R. positive dans un tube sur trois
2 mai : R. —
10 — R. —

La malade revient à l'hôpital Claude-Bernard, le 1^{er} juin pour subir une nouvelle prise de sang, la réaction est trouvée négative.

Obs. XXVI. — M^{me} Parrou.., 33 ans, entre le 15 avril à l'hôpital Claude-Bernard, ayant été vaccinée avec succès le 6 du mois et présentant une variole à éléments assez nombreux et ecchymotiques, cohérence sur la face, hémorragies nasales et sous-conjonctivales, état général mauvais et tous les éléments deviennent le lendemain hémorragiques. Traitement par le sérum de varioleux, 4 injections, la dessiccation apparaît et la desquamation commence à partir du 25. La malade sort guérie le 25 mai.

Réactions de fixation.

- 18 avril : Réaction positive
26 avril : Réaction négative.

OBS. XXVII. — M^{me} Char..., 41 ans, entre le 18 avril 1912 ne se souvenant pas d'avoir été vaccinée, elle présente des éléments vésiculo-pustuleux assez discrets avec maximum sur la face.

Début de la dessiccation le 23 avril, évolution normale, traitement par le xylol.

La malade est sortie le 17 mai.

Réactions de fixation.

18 avril : Réaction négative (mais l'hémolyse est incomplète dans le 3^e tube).

25 — Réaction positive.

2 mai — —

10 — — —

17 — Déviation dans un tube, hémolyse totale dans deux autres.

OBS. XXVII. — M. Largail..., 25 ans, vacciné à l'âge de 2 ans, entre à l'hôpital Claude-Bernard le 25 avril 1912; présente des pustules à type herpétique au niveau de la face, éléments peu nombreux sur le corps. Etat général bon, évolution rapide, début de la dessiccation le 27 avril; de la desquamation le 30, elle est achevée le 17 mai.

Le malade sort complètement guéri le 23.

Réactions de fixation.

25 avril : Déviation dans un tube, hémolyse dans les deux autres.

2 mai : Déviation complète.

10 — Déviation dans un seul tube.

17 — — — —

OBS. XXIX — M^{me} Bour..., 42 ans, entre le 27 avril avec une éruption confluyente sur presque tout le corps, les éléments prennent secondairement sur les membres inférieurs un caractère hémorragique et la malade meurt le 5 mai.

Elle a été traitée par le sérum de varioleux en injections sous-

cutanées et elle en reçoit 12 cent. cubes le 27 avril, 23 cent. cubes le 28, 13 cent. cubes le 29, 20 cent cubes le 4 mai.

Réaction de fixation.

Prise de sang faite le 1^{er} mai, la réaction est négative.

OBS. XXX. — M^{me} Mac-Mil... 30 ans, entre le 1^{er} mai avec une éruption variolique cohérente à la face, formée d'éléments acnéiformes, éruption discrète sur le corps, évolution normale, début de la dessiccation le 3 mai ; la desquamation commence le 15 et la malade sort guérie le 31 mai.

Réactions de fixation.

2 mai : Réaction positive.

10 — — —

17 — — —

24 — Réaction négative.

OBS. XXXI. — M^{me} Bau..., 45 ans, entre à l'hôpital Claude-Bernard le 4 mai 1912 avec quelques éléments très discrets sur la face, la malade a été vaccinée il y a 3 ans. Etat général très bon ; dessiccation rapide et desquamation achevée le 20. Evolution apyrétique.

La malade quitte l'hôpital le 27 mai, traitement au xylol.

Réactions de fixation.

7 mai : Déviation dans un tube.

17 — — —

22 — Réaction négative, hémolyse totale

OBS. XXXII. — M^{me} Par..., Thérèse, 28 ans, entre à l'hôpital Claude-Bernard, le 10 mai, présentant une variole confluyente à la face, cohérente à la poitrine, quelques taches ecchymotiques au niveau des membres inférieurs, tendance aux hémorragies.

Dessiccation de la face à partir du 16 mai ; desquamation vers le 20 se poursuivant lentement jusqu'au début du mois de juin.

La malade sort guérie le 23 juin. Elle reçut comme traitement à la fois du xylol et du sérum de varioleux ; le 11, le 13 et le 14 mai.

Réactions de fixation

- 11 mai : déviation dans un tube.
18 — déviation totale.
24 — déviation dans un seul tube, hémolyse dans les deux autres.

Obs. XXXIII. — M. Card..., René, 54 ans, entre à l'hôpital Claude-Bernard, le 10 mai, n'ayant plus été vacciné depuis le service militaire, avec une éruption variolique papuleuse discrète sur la face et le corps, les éléments ont un type herpétique au niveau de la poitrine.

Dessiccation vers le 17 mai et la desquamation se fait normalement, le malade sort guéri le 7 juin.

Traitement par le xylol.

Réactions de fixation

- 11 mai : Réaction négative.
16 — Réaction positive.
24 — Hémolyse partout. Réaction négative.

Obs. XXXIV. — M^{me} Cay., Louise, vient à l'hôpital Claude-Bernard, le 10 mai, avec une éruption extrêmement discrète se trouvant surtout au visage. Etat général très bon, la température tombe en 48 heures et la desquamation est terminée le 18 mai.

Le malade sort à la fin du mois.

Traitement au xylol.

Réactions de fixation

- 11 mai : déviation partielle.
16 — —
24 — réaction négative.

Obs. XXXV. — M^{lle} B. . . , Léonie, 8 ans, vaccinée dans l'enfance, entre à l'hôpital Claude-Bernard, le 22 avril, présentant une variole cohérente à la face et sur le corps. Etat général très bon.

Dessiccation et desquamation rapides.

Traitement au xylol ; sort le 24 mai.

Réaction de fixation

N'a pu être pratiquée qu'une seule fois, le 17 mai.

Déviation dans un seul tube.

Nous schématiserons encore dans le tableau synoptique suivant les résultats de cette deuxième série d'observations, ils sont portés sur cinq colonnes selon le moment où les prises de sang ont été effectuées.

N ^o .	VÉSICO- pustules.	SUPPURATION et début dessication.	FIN de la dessic- cation et début desquamation	FIN desquamation 30 ^e jour 35 ^e jour.	APRÈS desquamation 40 ^e jour.
XIII		?	+	+	
XIV		+ +		—	
XV	+	+ +	+ +	—	
XVI		+ +	+ +	+ +	—
XVII			+ +	+ +	—
XVIII			+ +	+	—
XIX			+ +	—	
XX					—
XXI	—	—	Meurt.		
XXII	—	+	+	—	—
XXIII			+ +	+ ?	
XXIV		—	+ +	+	
XXV	+ +	+ +	+ +	+	+ (— 60 ^e j.)
XXVI	+ +		—		
XXVII.	— ?	+ +	+ +	+	
XXVIII	+	+ +	+	+	
XXIX	—	Meurt.			
XXX	+ +	+ +	+ +	—	
XXXI		+	+	—	
XXXII	+	+ +	+		
XXXIII	—	+ +		—	
XXXIV	+	+		—	
XXXV				+	

+ + = Réaction positive dans les trois tubes.

+ = Réaction partielle (hémolyse dans un tube).

— = Réaction négative.

EN RÉSUMÉ :

La recherche des réactions humorales que nous avons poursuivie sur trente-six cas de variole, permet certaines constatations.

1° *Pouvoir virulicide.* — Les varioleux étudiés à ce point de vue ont présenté la propriété virulicide de leur sérum dès le stade des vésico-pustules ; nous l'avons donc observée plus précocement que ne l'avaient signalé M. Bécclère et ses collaborateurs. Dans un cas, le liquide céphalo-rachidien s'est montré antivirulent, moins cependant que le sérum du même malade.

2° *Réaction de fixation.* — Sauf 3 cas d'exception, nous avons toujours observé avec la plus grande netteté la présence d'une réaction de déviation complémentaire. Constante au moment de la suppuration, elle apparaît très souvent dès les vésico-pustules, mais bientôt la réaction s'atténue en même temps que l'infection variolique s'éteint et à la fin de la desquamation, vers le 30^e jour, la réaction disparaît. Dans un cas cependant, la réaction, encore partiellement positive le 42^e jour, était trouvée enfin négative le 60^e. Le point capital de ces recherches est donc la très courte évolution de la réaction de fixation qui apparaît comme nettement liée à l'évolution même de l'infection variolique. Dans la 1^{re} série d'observations nous avons employé parallèlement comme antigène la lymphé vaccinale et la lymphé ou les croûtes varioliques. Au début de la variole, la réaction a été, dans quelques cas, positive avec l'antigène variolique, alors qu'elle était négative avec l'antigène vaccinal.

Il est d'autre part assez curieux de noter que la réaction a subsisté plus longtemps avec l'antigène vaccinal qu'avec l'antigène variolique.

Nous ne faisons que signaler ces faits.

Ces particularités mises à part, la réaction de fixation dans la variole s'obtient, tant avec un antigène variolique qu'avec un antigène vaccinal.

Ces deux antigènes se comportent de même façon, vis-à-vis des substances existant dans le sérum des varioleux. Nous avons déjà signalé, d'ailleurs, que des sujets vaccinés présentent des réactions identiques avec des produits vaccinaux ou varioliques.

Faut-il déduire de ceci qu'il y a identité entre les deux virus ? Semblable conclusion nous paraît fort peu légitimée. La parenté évidente et étroite qu'il y a entre la vaccine et la variole suffit pour que l'on puisse comprendre la possibilité de réactions réciproques.

De semblables exemples sont d'ailleurs connus.

M. Widal a signalé des faits du même ordre dans ses études sur les co-fixations mycosiques. De même il est possible d'obtenir des réactions de déviation chez le tuberculeux, en prenant quelquefois comme antigène le bacille de Timothé, qui est, comme le bacille de Koch, un bacille acido-résistant.

Les constatations faites par l'étude des réactions humorales ne permettent point, à notre avis, d'élucider davantage le problème des rapports qui unissent la variole à la vaccine. Toutes ces réactions ne sont que le témoignage de leur étroite parenté de « groupe ».

Dans trois observations parmi les trente-six cas de variole que nous rapportons, nous n'avons point trouvé la réaction de fixation (obs. IV, XXI, XXIX) ; ces trois malades sont morts peu de temps après leur entrée à l'hôpital (6 jours, 10 jours, 8 jours) ; dans l'observa-

tion IV, la mort a été provoquée par une complication broncho-pulmonaire. Mais dans ces trois cas il y eût des manifestations hémorragiques et il est assez curieux de noter l'absence ou la très faible intensité de la réaction de fixation dans les varioles accompagnées de semblables accidents. C'est ainsi que nous ne trouvons que des réactions partielles dans les observations XIII et XXII, où les malades ont présenté des rash hémorragiques.

Dans l'observation XXVI caractérisée par une éruption ecchymotique et des hémorragies nasales, la réaction positive à l'entrée disparaît en 8 jours, offrant ainsi un minimum de durée.

Ces faits valent d'être signalés, on sait en effet que Von Pirquet considère les varioles hémorragiques comme des varioles hyperergiques, c'est-à-dire qu'elles seraient conditionnées par un état d'allergie.

D'après l'hypothèse, on ne devrait donc rencontrer chez ces malades que les anti-corps de cet état d'allergie ; or ces anti-corps, nous l'avons vu et nous le redisons, nous paraissent caractérisés par leur propriété virulicide et la réaction de fixation, au contraire, ne peut les déceler. Nos constatations tendraient donc à prouver l'hypothèse de Pirquet.

Nous signalerons enfin que dans les observations (XXXI-XXXIV), caractérisées l'une et l'autre par une évolution très rapide et apyrétique, véritables varioloïdes, la réaction de fixation fut, là encore, partielle ; il semblerait donc qu'aux formes atténuées répondrait une réaction de faible intensité. Mais il y a encore lieu de se demander s'il ne faut pas invoquer, pour expliquer cette faible intensité des réactions dans les varioles à type de

varioloïde, le fait qu'il s'agirait dans ces cas d'une modification allergique du processus de la variole.

3° *Revaccination*. — Chez tous les varioleux que nous avons revaccinés, nous n'avons jamais observé la moindre réaction pouvant être dissociée des traces du traumatisme.

Les varioleux se trouvent donc vis-à-vis d'une revaccination comme un primo-vacciné dans les jours qui suivent l'insertion vaccinale : dans les deux cas, l'inoculation de vaccin ne produit pas d'effet clinique appréciable, dans les deux cas également on trouve dans le sérum des sensibilisatrices déviant le complément.

Ceci est donc conforme à ce que nous énoncions au début de notre étude, à savoir :

On observe la réaction précoce au moment où le sérum est doué d'un pouvoir antivirulent, mais il ne fixe plus à ce moment le complément (1).

Les faits précédents permettent d'aborder un point pratique.

Par la constance de la réaction de fixation, il est, en effet, à se demander si celle-ci ne pourrait être employée pour le diagnostic de la variole dans les cas douteux, et surtout pour établir sa distinction d'avec la varicelle.

Nous nous sommes d'abord assurés de l'étroite spécificité de la réaction, en essayant de la produire par la substitution d'antigènes divers (tuberculine, extrait de foie syphilitique, agents microbiens). Nous avons constamment obtenu des résultats négatifs.

(1) Il est enfin à remarquer que dans l'observation XIV, la revaccination du varioleux ayant subi une dernière vaccination un mois 1/2 auparavant, a donné une réaction précoce typique. A ce moment disparaissaient du sérum les sensibilisatrices déviant l'alexine.

Cherchant parallèlement s'il se trouvait quelques sérums de non varioleux pouvant dévier le complément vis-à-vis d'une lymphé variolique ou vaccinale, nous n'avons encore obtenu aucune réaction.

A ce point de vue, plusieurs sérums ont été essayés, provenant de : tuberculeux pulmonaires et pleuraux, rhumatisants, syphilitiques et scarlatineux, aucun n'a fixé dans les conditions de l'expérience. Dans ces recherches de contrôle, il faut avoir soin de ne pas prendre le sérum d'un sujet venant d'être vacciné, il pourrait (voir plus haut) offrir la réaction de fixation.

La spécificité de la méthode paraissant réelle vis-à-vis de l'antigène variolique et vaccinale, nous avons pu, dans deux cas de varicelle, dont les caractères cliniques étaient douteux, éliminer la variole, ce qui fut confirmé par l'évolution ultérieure.

Inversement, nous avons pu reconnaître une variole dont les symptômes cliniques simulaient singulièrement la varicelle (voir observation X).

Les circonstances ne nous ont pas permis de comparer davantage les réactions humorales de ces deux affections.

CHAPITRE III

RECHERCHES SUR L'IMMUNITÉ PASSIVE

SOMMAIRE

- I. — Immunité vaccinale passive conférée par le sérum des sujets vaccinés. — Travaux de L. Camus, Henseval et Convent.
- II. — Immunité variolique passive conférée par inoculation de sérum de varioleux. — Recherches personnelles. — Bases expérimentales de la sérothérapie variolique.

Nous avons signalé dès le 1^{er} chapitre les expériences déjà anciennes, prouvant nettement qu'il était possible de conférer à l'animal neuf une immunité passive vis-à-vis de la vaccine par inoculation de sérum d'animal vacciné. Nos recherches nous ont amené à essayer de préciser les conditions de cette immunité. Plusieurs points étaient à envisager :

1^o L'immunité vaccinale passive conférée par le sérum ou les exsudats des sujets vaccinés ;

2^o L'immunité vaccinale passive conférée par l'inoculation de sérum de varioleux ;

3^o L'immunité variolique passive conférée également par inoculation de sérum de varioleux.

Une question importante s'attachait à ces problèmes, celle de la sérothérapie possible antivariolique.

Sur le premier point nous n'apporterons presque pas de document personnel. Cependant nous avons signalé plus haut (2^e partie, chapitre I^{er}, paragraphe V), nos quelques expériences sur l'inoculation des exsudats provoqués chez un animal vacciné et conférant passivement une certaine immunité à l'animal neuf. Nous n'avons pas étudié l'action du sérum d'un vacciné inoculé dans un but de sérothérapie, mais L. Camus (1) fit, à ce moment, cette étude et mit en évidence quelques notions fort intéressantes que nous allons rappeler. Si on injecte par voie endo-veineuse à un lapin neuf, 40 centimètres cubes par kilo d'animal d'un sérum de lapin vacciné, ce lapin acquiert au moins une immunité partielle contre une inoculation seconde sur le dos. Le pouvoir préventif est le même, que l'injection ait été faite 10 jours ou quelques minutes avant l'inoculation du vaccin, « l'immunité n'a pas besoin d'incubation », ce fait d'ailleurs avait déjà été vu par Béchère, Chambon et Ménard.

Si l'on veut obtenir une immunité complète de l'animal, il faut inoculer au lapin neuf une quantité de sang voisine de la masse totale du sang du corps.

Camus montra d'autre part que si le sérum virulicide est inoculé après le début de l'éruption, son action est nulle : pendant la phase d'incubation, les doses employées par l'auteur n'agissent pas au-delà de la 5^e heure après l'inoculation.

(1) L. CAMUS. Immunisation vaccinale passive et sérothérapie. *Compte-rendu Académie des sciences*, t. CLV, p. 75, 1^{er} juillet 1912.

De la valeur de l'immunité vaccinale passive. *Compte-rendu Académie des sciences*, t. CLV, p. 237, 16 juillet 1912

De l'action curative du sérum virulicide. *Société de Biologie*, t. LXXIII, p. 294, 27 juillet 1912.

De ce fait, Camus conclut à la grande difficulté d'une sérothérapie efficace et ne pouvant jamais être pratiquement assez hâtive.

Parallèlement aux recherches de Camus, Henseval et Convent (1) en poursuivaient de semblables en Belgique, ils montrèrent que le sérum des animaux vaccinés injectés aux neufs possède un pouvoir préventif. Ils possèdent aussi un certain pouvoir curatif, s'il est injecté en grande quantité et avant le début de l'éruption : pour ces auteurs, en effet, si l'on injecte dans la circulation générale d'un lapin jeune 10 centimètres cubes de sérum par kilo d'animal, on peut remarquer l'action empêchante de ce sérum jusqu'à la 48^e heure après la vaccination. Les travaux de Camus et des auteurs belges concordent donc, sauf sur le moment limite fixant l'efficacité de la sérothérapie, 5^e heure pour Camus, 48 heures pour Henseval et Convent.

L'immunité vaccinale et variolique conférée par les injections de sérum de varioleux n'a été l'objet que d'un petit nombre de recherches, et l'on sait seulement par les travaux de Béclère, que le mélange de sérum variolique à du vaccin tue le virus vaccinal.

En collaboration avec notre maître, le professeur P. Teissier et notre collègue P.-L. Marie (2), nous avons

(1) HENSEVAL et CONVENT. Recherches sur l'immunité vaccinale. Etude des propriétés des sérums des animaux vaccinés.

Contrôle du vaccin. Méthode de contrôle basée sur le pouvoir antivirulent du sérum des animaux vaccinés vis-à-vis de la vaccine. *Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique*, t. XXVI, f. 4 et 5, p. 251-281, p. 361-381, avril et mai 1912.

(2) P. TEISSIER, P. GASTINEL, P.-L. MARIE. De l'immunité vaccinale passive conférée par les injections intra-veineuses de sérum variolique. *Académie des sciences*, 22 décembre 1912.

repris l'étude de ces faits pour établir la base expérimentale de la sérothérapie anti-variolique (1). Pour élucider cette question, il convenait d'envisager d'abord l'influence du sérum d'un varioloux sur la maladie vaccinale expérimentale, ensuite l'influence du même sérum sur l'infection variolique, également expérimentale. Il nous a été impossible d'étudier la seconde partie du problème. L'épidémie de variole ayant pris fin : dès que les circonstances nous le permettront, nous nous proposons de compléter à ce point de vue cette étude. Dans nos

(1) Antérieurement à ces recherches expérimentales, le Prof^r Teissier et son interne P.-L. Marie ont, en effet, tenté le traitement de la variole par l'injection de sérum de varioloux.

Les résultats qu'ils ont obtenus ont été communiqués à l'Académie des Sciences (séance du 9 décembre 1912). Nous en résumerons, à titre de document, les points principaux : La méthode fut appliquée à 13 cas de variole grave.

Les injections étaient faites à doses répétées (10 ou 20 cent. ³ par dose) par la voie sous-cutanée ou intra-veineuse, ce sérum provenait de varioloux en voie de guérison, il offrait toujours un pouvoir virulicide net et il était choisi au moment où la réaction de fixation était en voie de disparition.

Cinq malades succombèrent, deux étaient des nourrissons non vaccinés, trois des varioles confluentes tardivement traitées, huit malades guérirent, une forme hémorragique d'emblée très grave, trois varioles avec rash hémorragique, trois varioles confluentes et un nourrisson non vacciné.

Injecté précocement, le sérum a une action favorable sur la gravité de la maladie, tardivement employé, au contraire, son action générale est médiocre.

Dans l'emploi de la sérothérapie, le phénomène le plus frappant est la rapide amélioration des symptômes généraux : chute de la température, augmentation des urines, diminution de fréquence du pouls, une élévation de la tension artérielle survenant au bout de 24 ou 48 heures.

Dans les formes hémorragiques d'emblée ou secondaire, traitées précocement, l'éruption reste discrète, les éléments se dessèchent sans suppurer et sans laisser de cicatrice. Dans les varioles confluentes, l'intensité de l'éruption n'est pas sensiblement modifiée, mais la suppuration peut faire défaut ou reste limitée : grâce à la prolifération active des cellules épidermiques, la réparation, ici encore, se fait à l'ordinaire sans cicatrice. Dans toutes ces recherches aucun accident ne fût imputable à la sérothérapie.

recherches nous avons utilisé le lapin qui réagit très bien à la vaccine, qui possède exceptionnellement l'immunité naturelle. Les injections de sérum variolique furent pratiquées par voie veineuse. L'inoculation vaccinale était faite sur le dos préalablement rasé et sur une étendue d'environ 40 centimètres carrés.

1^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES. — Une dose de 6 centimètres cubes de sérum provenant d'un varioleux au 30^e jour de la maladie et ne déviant plus que partiellement, le complément fut injecté à trois lapins; un de ces animaux revacciné le lendemain de l'injection, offrait une injection superposable à celle du témoin. Le second lapin, vacciné trois jours après l'injection, présentait une éruption d'intensité moyenne, constituée par des papules avortées et rapidement sèches. On comptait environ une papule par centimètre carré. L'éruption du témoin était au contraire confluyente. L'essai du pouvoir virulicide du sérum de l'animal, recherché immédiatement avant la vaccination cutanée, témoigne que ce sérum atténuait considérablement le vaccin, la zone d'épreuve à la revaccination présentant 30 papules, alors que la zone témoin offre une éruption confluyente.

Le 3^e lapin, revacciné 6 jours après la sérothérapie, eût aussi une éruption de moyenne intensité, tandis que le témoin eut une vaccine confluyente. Son sérum, également étudié immédiatement avant la vaccination, se montra virulicide, quoique à un moindre degré que celui du lapin précédent.

2^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES — Nous avons tenté l'immunisation passive par des injections de sérum répétées et à faible dose.

Deux animaux reçoivent ainsi quotidiennement pendant quatre jours 3 centimètres cubes de sérum d'un varioleux au 20^e jour de sa maladie et possédant encore des sensibilisatrices déviant l'alexine. Après la dernière injection, on prélève du sang par ponction du cœur, et on en étudie le pouvoir antivirulent en même temps qu'est pratiquée l'inoculation vaccinale. Chaque animal offre une érup-

tion peu intense d'éléments mal venus, constitués par des efflorescences avortées différant complètement des éléments de l'éruption témoin.

D'autre part, le sérum de ces deux lapins tue presque complètement le vaccin, le mélange de ces sérums avec le vaccin donnant à la vaccination d'épreuve quatre papules, alors qu'il y a confluence sur une zone de même étendue inoculée avec le mélange vaccin et eau physiologique.

3^e SÉRIE D'EXPÉRIENCE. — Trois lapins reçoivent pendant quatre jours dans les veines 4 centimètres cubes du sérum d'un varioleux au 20^e jour, mais dont la réaction de fixation venait de disparaître totalement.

Immédiatement après la dernière injection, les animaux sont vaccinés ; ils n'offrent pour ainsi dire aucune éruption et leur sérum possède un pouvoir antivirulent très accentué, la neutralisation du vaccin étant totale.

4^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES. — Dans ces recherches, c'est la vaccination qui fut d'abord pratiquée et la sérothérapie fut secondairement mise en action. Trois lapins sont inoculés sur la peau du dos avec 3 centimètres cubes de dilution vaccinale au 1/100. L'un de ces animaux reçoit immédiatement après 3 centimètres cubes de sérum provenant du même malade que dans la troisième série ; sept jours après ce lapin présente une éruption moyenne de 58 papules.

L'animal témoin présente une éruption confluyente. Le second lapin traité vingt-quatre heures après par la même dose du même sérum, présente au 7^e jour une éruption fort discrète d'éléments aplatis, mal venus, n'évoluant pas, simple efflorescence en rien comparable à l'éruption du témoin.

Enfin le 3^e lapin recevant le sérum de varioleux 48 heures après la vaccination eutanée, ne présente *aucune modification dans son éruption*, qui est aussi confluyente et aussi franche que celle du témoin.

Nos recherches mettent donc en évidence quelques faits que nous résumerons brièvement.

1° La vaccination cutanée du lapin peut être modifiée à la suite de l'injection d'une seule dose de 6 centimètres cubes de sérum variolique, lorsqu'elle est pratiquée dans les 2 à 6 jours qui suivent cette injection ;

2° L'injection de sérum variolique, à dose répétée et fractionnée, modifie l'éruption vaccinale secondaire, alors même que cette vaccination est pratiquée immédiatement après la dernière injection, et le sérum de l'animal a acquis à ce moment de fortes propriétés neutralisantes vis-à-vis du vaccin ;

3° Quand la vaccination précède la sérothérapie, celle-ci ne semble avoir d'effet que lorsqu'elle est faite dans les 48 heures qui suivent la vaccination. Passé ce délai, l'éruption vaccinale évolue chez l'animal traité comme chez le témoin ;

4° Enfin le sérum variolique le plus apte à conférer l'immunité passive, doit provenir d'un sujet en convalescence ou guéri, et plus précisément doit être recueilli au moment où, étant seulement virulicide, on ne peut plus y déceler la présence de sensibilisatrices déviant le complément.

Nos recherches montrent donc, comme celles de L. Camus, que les tentatives de sérothérapie, pour être efficaces, doivent être très précoces.

CHAPITRE IV

DISCUSSION ET INTERPRÉTATION

SOMMAIRE.

- I. — Discussion sur la valeur et la spécificité des méthodes de recherches. — Critique de la réaction de fixation. — Les preuves de sa spécificité.
- II. — Interprétation des résultats obtenus. — Les réactions d'infection. Les réactions d'immunité ou mieux d'allergie. — Comparaison avec les données fournies par la réaction de Wassermann dans la syphilis. Deux modalités de propriétés acquises dans le sérum du vacciné et du varioleux. — Comparaison des faits expérimentaux avec la théorie de Von Pirquet.

Parvenus au terme de l'exposé de nos recherches expérimentales sur les réactions humorales de la vaccine et de la variole, nous devons grouper synthétiquement les résultats obtenus (1) et nous demander s'ils sont justiciables d'une interprétation d'ensemble.

Mais avant d'aborder cette interprétation, il faut de toute nécessité faire la critique des procédés employés et de leur valeur intrinsèque.

Nous avons, au cours de ce travail, adressé à maintes reprises, des objections à nos méthodes, et nous avons reproché aux quelques auteurs qui se sont occupés du sujet, d'avoir omis de les formuler.

(1) Ces résultats sont résumés à la fin de chaque paragraphe consacré aux différentes séries de recherches.

La recherche du pouvoir virulicide du sérum se présente comme une réaction nullement entachée de cause d'erreur. Il suffit, en effet, pour affirmer la validité de l'expérience, de faire la recherche témoin qui prouve que le vaccin employé est bien virulent, et que, par conséquent, l'atténuation ou l'absence de l'éruption sur la zone d'essai est bien légitimement due à un pouvoir acquis du sérum éprouvé.

Nous n'avons, d'autre part, répétons-le, jamais observé de sérum normal capable de neutraliser le vaccin.

Mais la réaction de fixation mérite une discussion infiniment plus importante pour assurer sa valeur.

Au premier abord, on pourrait sévèrement la critiquer, en montrant que l'introduction, dans l'organisme, d'éléments hétérogènes associés au virus vaccinal, peut être la condition suffisante de son apparition.

Il s'agirait alors d'une réaction traduisant la présence d'anticorps vis-à-vis de ces éléments, et non point vis-à-vis du virus vaccinal : ce serait en somme une réaction d'ordre sérique.

Cette interprétation pourrait même se justifier par ce fait que la déviation complémentaire, dans la longue suite de nos observations, a toujours apparu avec un caractère de précocité et de courte durée.

Ainsi seraient adressées à la méthode les mêmes critiques, quant à sa spécificité, que celles naguère formulées par Kraus sur la valeur de la réaction précoce de Von Pirquet.

Bien qu'il soit extrêmement difficile de départager, entre les différents éléments qui conditionnent la méthode de Bordet appliquée à la variole et à la vaccine, nous

pensons qu'elle présente une spécificité réelle, et cela pour des raisons que nous allons maintenant envisager :

1° Le sérum neuf de lapin, de chien, de singe, de génisse, ne dévie jamais spontanément le complément. Sauf pour un chien, atteint de la maladie des jeunes chiens, la déviation n'a jamais eu lieu en présence de la lymphe vaccinale, quand l'animal n'avait pas été vacciné ;

2° Quand on observe la réaction de fixation chez un sujet vacciné par quelques traits de scarification, il est bien peu probable qu'il ne faille invoquer dans sa production que la quantité si minime d'éléments hétérogènes introduits avec la lymphe.

3° Il est possible de déterminer la déviation du complément en prenant comme antigène, soit du vaccin humain, soit du vaccin de génisse, soit du vaccin de lapin, alors que le sérum étudié provient de l'animal immunisé par l'un quelconque de ces vaccins : il y a donc spécificité pour le virus ;

4° La réaction de fixation survient toujours chez un sujet dont le sérum est, ou sera antivirulent.

Elle ne survient jamais quand l'immunité n'est, ou ne sera pas acquise. C'est ainsi que préparant deux animaux de la même façon, avec les mêmes doses d'un même vaccin, l'un présente une réaction de fixation totalement positive, et il est complètement immunisé ; l'autre ne présente qu'une réaction complémentaire partielle, et n'offre qu'une ébauche d'immunité (voir lapins 80 A et 82 A).

Il y a donc parallélisme entre la réaction observée et l'immunité obtenue ; mais il faut bien noter que ce paral-

lélisme se remarque plus dans la succession des faits que dans leur simultanéité. Nous avons, en effet, signalé que la réaction de fixation peut apparaître chez un sujet dont l'immunité ne sera constituée que quelques jours plus tard. (Voir les conclusions sur la vaccine digestive) ;

5° On n'observe aucune réaction de fixation avec le vaccin tué par chauffage et inoculé par voie veineuse ou digestive, alors que les mêmes doses de vaccin, non chauffé, inoculées par les mêmes voies, donnent la réaction. (Voir lapins 73, 90, 91, 91 *bis*) ;

6° Enfin, la substitution de l'antigène variolique à l'antigène vaccinal est du plus haut intérêt pour affirmer la valeur de la déviation complémentaire.

Dans ces cas de substitution, en effet, la réaction n'est pas conditionnée par l'introduction d'éléments hétérogènes (c'est évident). Elle prouve seulement une spécificité de groupe, c'est-à-dire que deux antigènes voisins ont une égale affinité pour les anticorps de deux affections voisines.

Cette substitution, entre deux substances si proches, est la seule que nous ayons pu employer avec succès. Il n'est aucun antigène capable de dévier le complément vis-à-vis d'un sérum de vacciné ou de varioleux. (Voir recherches de contrôle, paragraphe 6, chapitre 1^{er}, 2^e partie) ;

7° Aucune lymphe non vaccinale (exsudat provoqué), ne peut produire dans les mêmes conditions des déviations complémentaires. (Voir recherches de contrôle).

Il est donc logique de déduire de ces constatations que la méthode employée dans nos recherches est valable.

Elle met bien en évidence des substances acquises

dans le sérum, et provoquées par l'action du virus introduit. Elles sont spécifiques pour l'antigène variolo-vaccinal (1).

Ayant établi la légitimité des méthodes de recherche, il nous faut tenter l'interprétation générale des faits observés.

Quel que soit le mode de vaccination étudié, nous avons toujours trouvé dans la vaccine humaine ou expérimentale : 1° une réaction de fixation apparaissant assez précocement, et ne pouvant plus être mise en évidence après un laps de temps de deux à trois semaines.

2° Au contraire, nous avons toujours observé, chez l'animal immunisé, un pouvoir virulicide du sérum débutant quelquefois après la réaction de fixation, mais qui se poursuit toujours bien après la disparition de cette dernière, continuant à assurer l'état réfractaire du sujet.

Chez l'homme, nous avons déjà fait remarquer que, pendant la période où s'observe la réaction de Bordet, on ne peut produire le phénomène de Pirquet, qui est, au contraire, l'effet presque constant de la revaccination, lorsqu'elle est pratiquée au moment où le sérum demeure antivirulent.

Un problème des plus difficiles à résoudre se pose donc : comment interpréter les deux ordres de renseignements fournis par la déviation complémentaire et l'action virulicide du sérum ? Ces deux réactions étant,

(1) Il est néanmoins des cas où la méthode peut perdre un peu de sa spécificité, lorsque inoculant des doses considérables et répétées de lymphé vaccinale, on place expérimentalement l'animal dans les conditions requises pour obtenir des réactions d'ordre sérique.

l'une précoce et transitoire, l'autre constante quand le sujet se trouve en état d'allergie (Voir définition du terme, 1^{re} partie, chapitre II).

Il n'est possible ici que de formuler des hypothèses : Ne pourrait-on expliquer ces faits par la notion de deux stades successifs dans l'évolution d'une vaccination humaine ou expérimentale.

A l'insertion ou l'inoculation du virus succéderait, après une incubation de durée variable selon les voies d'introduction, une période d'infection ou de conflit durant quelques jours, et secondairement suivie de l'état réfractaire ou mieux de l'état d'allergie.

La période d'infection, entendue dans son sens le plus large, est celle où le virus détermine dans l'organisme une série d'actes dont le résultat est d'assurer la protection vaccinale. Ce stade, essentiellement de conflit entre le germe introduit et l'organe récepteur, serait, *in vitro*, décelé par une réaction précoce et transitoire comme lui. Il y aurait dans le sérum du vacciné des sensibilisatrices créées par l'infection vaccinale, et s'atténuant lorsque cette infection s'éteint. Ces sensibilisatrices seraient justement celles qui nous donneraient la réaction, de déviation, précoce et transitoire comme le stade d'infection.

Dès ce stade, l'immunité commence à s'établir pour s'affirmer ensuite et c'est peut-être ce qui nous explique que le pouvoir antivirulent du sérum peut apparaître, dans certains cas, après la réaction de fixation, mais que toujours, il lui survit pendant fort longtemps.

Le stade d'immunité serait donc caractérisé, *in vitro*, par un autre type de réaction humorale qui est la mise en évidence d'une substance virulicide.

Ainsi, dans le mécanisme de l'immunité vaccinale nous trouverions deux sortes d'anticorps, les uns sont liés à l'infection vaccinale, et ont comme propriété de dévier le complément, les autres sont liés à l'état d'immunité et ils ont comme propriété de neutraliser le virus : ils sont caractéristiques de l'état d'allergie.

Cette conception peut également s'appliquer aux recherches humorales faites chez le varioleux ; les cas que nous avons pu suivre, ont bien montré que la réaction de fixation existe surtout au plus fort de l'infection, au moment de la suppuration, que son intensité souvent même est parallèle à la gravité de l'infection (exception faite des varioles avec accidents hémorrhagiques) et qu'elle va s'atténuant pendant la desquamation pour disparaître ensuite. On sait, au contraire, que le sérum du varioleux demeure neutralisant longtemps après la fin de la maladie.

Notre hypothèse concorde avec ce que l'on sait par ailleurs, des réactions de fixation dans d'autres infections.

D'après Wassermann et Bruck, Christian et Rosenblatt, les anticorps tuberculeux fixant le complément sont uniquement formés dans les tissus tuberculeux, « leur apparition dans le sérum n'étant pas l'expression d'une immunité mais un symptôme de tuberculose. »

Dans la syphilis enfin, on sait que la réaction de Wassermann est très manifestement en rapport avec l'infection syphilitique. A la période secondaire, c'est-à-dire au moment où l'infection est généralisée, elle atteint une fréquence de 80 à 90 $\%$. Plus on s'éloigne du début de l'affection, plus la réaction devient souvent négative (Levaditi). Il semble de plus que le traitement atténuant

l'infection, diminue aussi la fréquence de la réaction de déviation. Lesser a publié une statistique de 23 cas dans lesquels l'épreuve de Wassermann, positive avant le traitement, est devenue négative après. Blaschko (Congrès de Budapest, 1909) établit également que la réaction diminue au cours du traitement et finit par devenir négative. Après traitement par l'arsénobenzol, on a signalé enfin la disparition ou l'atténuation de la réaction de Wassermann. Tous ces faits tendent à prouver que dans la syphilis la déviation complémentaire est conditionnée par l'état infectieux plus ou moins accusé du sujet.

On sait enfin qu'après l'ablation des kystes hydatiques on note généralement la disparition du phénomène de Bordet, et que sa réapparition peut même déceler une réinfestation.

Mais, mieux que partout ailleurs, on peut préciser dans la vaccine et la variole la valeur des différentes réactions humores ; l'infection offrant, ici, une évolution cyclique, s'achevant nettement et l'immunité conférée pouvant, en quelque sorte, être considérée comme une « suite » de la période d'infection.

Si nous voulons pousser plus avant l'analyse des faits, et si nous cherchons à préciser la nature des deux types d'anticorps que nos réactions nous ont montré *in vitro*, et que cliniquement nous prévoyons dans notre hypothèse (anticorps d'infection, anticorps d'immunité), il est peut-être bien dangereux de les définir.

Tout terme, en effet, appliqué à un anticorps, tend par trop à l'objectiver, alors qu'il n'a souvent d'individualité que par la notion du moment où il est mis en évidence.

Cependant on pourrait trouver dans les distinctions de Pirquet les éléments d'une analyse plus approfondie.

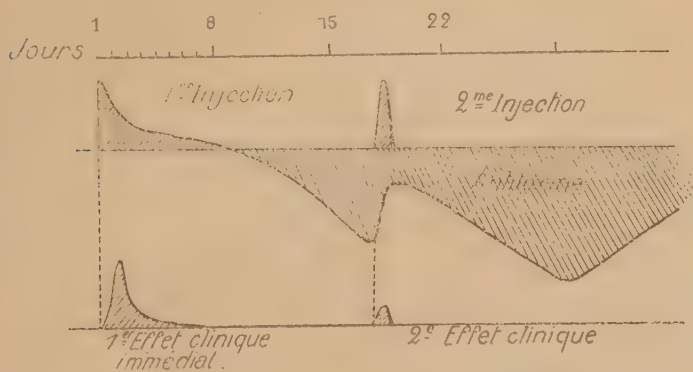
La comparaison de ses théories et des résultats de nos expériences est en effet particulièrement suggestive.

Pour faire cette comparaison il nous est indispensable de donner un bref aperçu de sa conception générale de l'allergie (1).

Nous nous efforcerons de la schématiser aussi simplement que possible : pour cela deux faits sont d'abord à mettre en évidence :

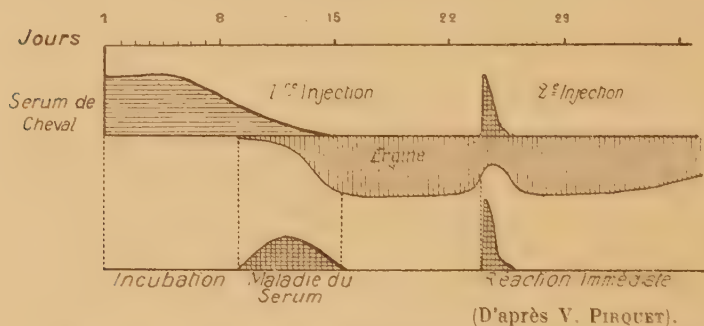
1° Si on injecte à un sujet une toxine, il se produit *immédiatement* un effet clinique toxique.

Sept ou huit jours après cette injection apparaît dans l'organisme un anticorps, qui est une antitoxine et si on pratique vers la 3^e semaine une nouvelle injection de toxine, celle-ci est en grande partie neutralisée par l'anticorps existant et on n'observe plus qu'un effet clinique minimal. Le schéma suivant emprunté à Pirquet objective cette hypothèse.



(D'après V. PIQUET).

2° Si on injecte à l'homme du sérum de cheval, on n'observe immédiatement aucun accident clinique. Mais, après une incubation de 8 jours, surviennent les symptômes de la maladie du sérum : à ce moment apparaissent en effet des anticorps, des ergines, qui, par leur combinaison avec le sérum de cheval, constituent un corps nouveau secondaire et toxique déterminant l'effet clinique. Qu'une nouvelle injection soit pratiquée vers la 3^e semaine, immédiatement le sérum inoculé entre en combinaison toxique avec l'anticorps préexistant, et la production d'apo-toxine qui en résulte, détermine une réaction immédiate de plus courte durée que la première, mais de plus grande intensité.



Si cette 2^e injection est pratiquée, non plus après trois semaines mais après un intervalle plus long, même de plusieurs années, on observe à sa suite une réaction accélérée dont les symptômes surviennent au bout d'une courte évolution de 4 à 6 jours, parce que les anticorps déjà formés se reproduisent plus rapidement après une nouvelle inoculation d'antigène.

Chacun des deux exemples précédents montre donc la formation d'un type très différent d'anticorps se compor-

tant également de façon très différente vis-à-vis d'une 2^e injection :

L'anticorps antitoxique a comme propriété de neutraliser une substance en elle-même toxique et, annihilant l'effet d'une 2^e injection, il ne peut se produire qu'une réaction allergique à peine décelable.

Les ergines, au contraire, sont des anticorps d'un tout autre type : ils ont comme caractéristique d'entrer en combinaison avec la substance inoculée, en elle-même inoffensive l'allergène et de donner naissance à un produit secondaire toxique l'apotoxine conditionnant les symptômes cliniques : c'est ce qui explique qu'une 2^e inoculation détermine aussitôt une réaction immédiate.

Ces deux types d'anticorps antitoxine et ergine, sont souvent associés, c'est ce qui arrive en particulier pour la vaccine : ici l'évolution du vaccin se poursuit pendant une incubation de 8 jours jusqu'au moment où, les anticorps apparaissant, il y a combinaison entre eux et le produit vaccinal, ce qui donne les symptômes de la maladie vaccine.

Si vers la 4^e semaine après la 1^{re} vaccination, on pratique une nouvelle inoculation, on observe aussitôt une réaction allergique immédiate. Les faits sont donc absolument superposables à ceux observés chez l'homme après inoculation de sérum de cheval. Mais l'évolution de la vaccine détermine également l'évolution d'anticorps antitoxique qui offre les caractères que nous leur avons attribués : cette anti-toxine ne subsiste pas longtemps après la 1^{re} inoculation de vaccin. Tant qu'elle coexiste avec l'ergine une nouvelle inoculation vaccinale ne pro-

duit qu'un très minime effet clinique (simple rougeur) ; mais bientôt l'antitoxine s'affaiblit ou disparaît, l'ergine au contraire subsiste, et si à ce moment une réinjection vaccinale est pratiquée, on observe une réaction immédiate intense.

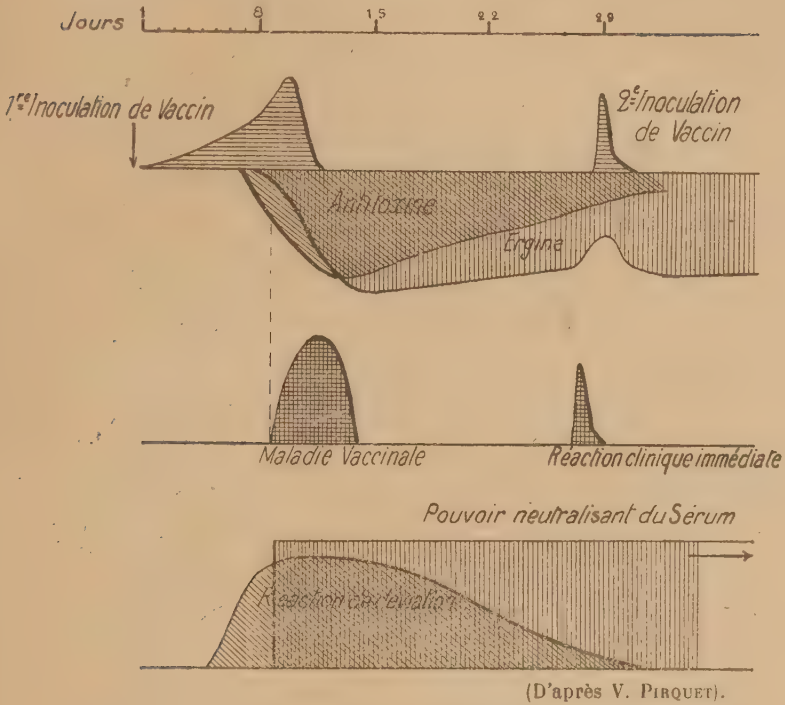
De la théorie de Pirquet brièvement résumée il nous faut surtout retenir un fait, il admet dans sa conception, qu'à la suite d'une vaccination deux types d'anticorps apparaissent, l'un a une courte évolution, l'autre explique les phénomènes allergiques.

Nos recherches nous ont amené à des constatations précises qui cadrent singulièrement avec les théories de Pirquet, et il nous paraît possible de superposer au schéma qu'il a obtenu par l'observation clinique un 2^e schéma synthétisant le résultat de nos expériences.

Des deux types d'anticorps qu'il décrit, nous pouvons rapprocher les deux types de réactions humorales constamment retrouvés comme s'il existait entre eux un étroit rapport. Ne peut-on penser que l'antitoxine de Pirquet représenterait l'anticorps qui donne la réaction de fixation et qui disparaît ensuite, transitoire dans sa durée comme la réaction qui le précède ?

A l'appui de cette hypothèse, on pourrait invoquer que, justement, au moment où disparaît la déviation complémentaire, c'est-à-dire quand l'antitoxine est en quantité déficitaire, à ce moment-là, le phénomène de la réaction précoce est nettement accusé, ce qui prouve, d'après Pirquet, la diminution de l'antitoxine vis-à-vis de l'autre anticorps. Ce dernier, conditionnant au contraire l'état d'allergie, serait décelé, *in vitro*, par la présence des propriétés virulicides du sérum.

Le schéma suivant synthétise ces faits.



Mais s'il est intéressant de formuler des hypothèses servant à interpréter des faits, on risque singulièrement de tomber dans le domaine de la spéculation, quand on veut accorder des attributs précis à telle ou telle conception d'anticorps.

Aussi, nous semble-t-il préférable d'envisager simplement la valeur clinique des deux types de réactions humorales observés chez le vacciné et le varioleux. Nous pensons suffisamment l'indiquer en les dénommant, d'après la seule constatation des faits : réactions d'infection et réactions d'immunité.

Nos recherches et l'interprétation que nous proposons permettent, en outre, certaines déductions.

En dissociant, comme nous avons pu le faire, les propriétés différentes d'un sérum : propriété de fixation et propriété neutralisante, il nous semble logique d'admettre que d'une façon générale on ne peut juger de l'action virulicide d'un sérum préparé, par ce fait qu'il possède des sensibilisatrices déviant le complément. On sait cependant que Maragliano (1) affirme l'action bactéricide de son sérum antituberculeux, parce qu'il fixe l'alexine vis-à-vis du bacille de Koch. Cette conclusion n'est peut-être pas absolument légitime.

Nos expériences montrent, d'autre part, que la réaction précoce de Pirquet, survenant à la suite d'une deuxième vaccination, est bien le témoignage d'une immunité acquise, puisqu'elle s'accompagne du pouvoir antivirulent du sérum. Les vaccinateurs ont à tenir compte de cette notion dans l'interprétation des revaccinations et de ce que l'on dénomme « fausse vaccine ».

Enfin, nous l'avons vu, la réaction de fixation peut être d'un réel secours dans le diagnostic de la variole.

(1) MARAGLIANO. La terapia specifica della tubercolosi e la vaccinazione. *Gazette degli ospedali e dell cliniche*, 1904, n° 145.

CONCLUSIONS

I. Le sérum d'un animal soumis à la vaccination par la voie cutanée ou non tégumentaire (voie sous-cutanée, péritonéale, digestive, endoveineuse) acquiert des propriétés nouvelles. Ces propriétés témoignent de l'activité et de la réalité des vaccinations faites en dehors de l'acte épidermique.

Elles se caractérisent :

a par la présence de substances sensibilisatrices, déviant le complément vis-à-vis d'un antigène vaccinal ou variolique.

b) par l'existence du pouvoir neutralisant du sérum vis-à-vis du vaccin.

II. La réaction de fixation est précoce, elle a toujours une durée limitée. L'action anti-virulente du sérum, parfois plus tardive, se prolonge très longtemps.

III. Les mêmes propriétés acquises se retrouvent, avec les mêmes caractères, dans le sérum des varioleux.

IV. Les antigènes vaccinal ou variolique obtenus selon la technique que nous avons précisée, peuvent être

substitués l'un à l'autre dans la recherche des substances sensibilisatrices qui apparaissent au cours de la vaccine et de la variole. Cette substitution témoigne d'une spécificité de « groupe » et on ne peut en déduire l'identité des deux antigènes.

V. Une signification différente doit être attribuée à chacune des réactions décelables *in vitro* dans le sérum d'un sujet vacciné ou varioleux : la réaction de fixation caractérise l'état d'infection vaccinale ou variolique. L'action virulicide du sérum, traduisant l'état de protection, répond à la période d'immunité ou mieux d'allergie.

VI. L'injection du sérum d'un varioleux à un animal neuf, le rend réfractaire à une vaccination ultérieure. Si cette injection est pratiquée immédiatement après la vaccination, elle empêche ou modifie l'éruption vaccinale. Le sérum de varioleux a une action d'autant plus accusée qu'il est recueilli au moment où, la réaction de fixation disparaissant, il est seulement virulicide. Le sérum de l'animal passivement immunisé acquiert des propriétés antivirulentes.

*
* *

Ces constatations permettent de déduire :

a) que la réaction de fixation, étudiée dans une maladie dont le cycle infectieux est nettement délimité, est la preuve d'un état actuel d'infection.

b) que les propriétés antivirulentes d'un sérum ne sont pas fonction de sa richesse en substances sensibilisatrices.

c) que le phénomène de la « réaction précoce » témoigne non seulement d'un état allergique, mais encore d'un état de protection vaccinale.

d) que la réaction de fixation, obtenue par l'emploi comme antigène, des croûtes varioliques conservées, réalise une formule précise de sérodiagnostic de la variole.

Vu :

Le Président de la Thèse,
LANDOUZY.

Vu :

Le Doyen,
LANDOUZY.

Vu et permis d'imprimer :

P^r Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
INTRODUCTION.....	9

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER. — La notion des anticorps dans la vaccine et la variole.....	15
CHAPITRE II. — Etude théorique et critique des anticorps dans la variole. — Leur mode de recherche.....	29

DEUXIÈME PARTIE. — RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER. — Recherches sur les réactions humores de	
la vaccine.....	57
I. — Généralités et technique	58
II. — Réactions humores chez les sujets vaccinés.....	70
III. — Réactions humores dans la vaccine expérimentale cutanée..	76
IV. — Réactions humores dans la vaccine expérimentale non tégu-	
mentaire.....	88
A) — Recherches expérimentales sur la vaccine sous-cutanée..	93
B) — Recherches expérimentales sur la vaccine endoveineuse..	101
C) — Recherches expérimentales sur la vaccine digestive.....	114
D) — Recherches expérimentales sur la vaccine péritonéale....	128
V. — Expériences sur la recherche des anticorps vaccinaux dans	
les organes.....	142
VI. — Recherches de contrôle.....	151
CHAPITRE II. — Recherches sur les réactions humores de la	
variole.....	153
CHAPITRE III. — Recherches sur l'immunité passive.....	184
CONCLUSIONS.....	205

